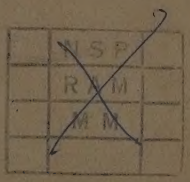
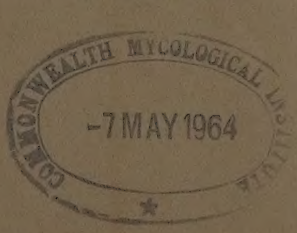
ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

REVUE DE BIOLOGIE

TOME VI 1961 N° 1





ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

REVUE DE BIOLOGIE

TOME VI
1961
N° 1

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

COMITÉ DE RÉDACTION

Rédacteur en chef:

A. SĂVULESCU, membre correspondant de l'Académie de la République Populaire Roumaine.

Membres:

EMIL POP, membre de l'Académie de la République Populaire Roumaine; TH. BUŞNIŢĂ, membre correspondant de l'Académie de la République Populaire Roumaine; P. RAICU; CALOIANU IORDĂCHEL MARIA — *secrétaire de rédaction.*

REVUE DE BIOLOGIE
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
JOURNAL OF BIOLOGY
ZEITSCHRIFT FÜR BIOLOGIE

Tome VI, № 1 1961

SOMMAIRE
СОДЕРЖАНИЕ
CONTENTS
INHALT

Page

EMIL POP und VIOREL SORAN, Über die Vitalfärbung der oberen Epidermiszellen von *Galanthus nivalis*-Zwiebeln 5

Н. ЗАМФИРЕСКУ, Г. БЫЛТЯНУ и С. УРТИЛЭ, Влияние температуры на поглощение фосфора кукурузой, фасолью и горохом, определенное с помощью радиоактивного фосфора P^{32} 33

E. RĂDULESCU, E. PERSICĂ and I. POPESCU, Contributions to the biology of the fungus *Sorosporium holci sorghi* (Riv.) Moesz. f. *zeae* (Pass.) Săvul. 43

M. IONESCU-VARO, Les parasomes de la glande albuminipare d'*Helix pomatia* L. 55

N. ŞANTA et C. GURBAN, Le rôle des processus métaboliques aérobies dans la physiologie des muscles lisses 61

М. ДИНУ, И. ПЭДУРАРУ и Г. АПОСТОЛ, Влияние синтетических эстрогенных веществ на развитие поперечно-полосатых мышечных волокон 71

ANA PRECUPEŢU and ŞT. NEGRU, Contribution to the knowledge of the wood wasps (*Hymenoptera, Siricidae*) of the Rumanian People's Republic Fauna 81

Z. FEIDER et I. MIRONESCU, Le chêtome des larves d'Ixodidés, critère nouveau de classification phylogénique 91

COMPTES RENDUS 103

RÉDACTION: INSTITUT DE BIOLOGIE
BUCAREST, 178, CALEA VICTORIEI

Sur l'initiative du Parti Ouvrier Roumain et du gouvernement du pays, une attention particulière est accordée ces derniers temps, dans la République Populaire Roumaine, au développement des recherches de biologie théorique et appliquée.

En même temps que les recherches dans le domaine des sciences agricoles étaient réorganisées, une décision spéciale du Conseil des Ministres, en date du 10 décembre 1960, arrêtait la création, dans le cadre de l'Académie de la République Populaire Roumaine, de l'Institut de Biologie «Traian Săvulesco», par réorganisation et agrandissement du Centre de Recherches biologiques de l'Académie.

Cet Institut a pour tâche de donner toujours plus d'essor aux recherches fondamentales dans les principaux domaines de la biologie.

La «Revue de Biologie» sera dorénavant l'organe officiel de cette institution.

Le siège actuel de la direction et de l'administration de l'Institut de Biologie se trouve 16, str. Lt Lemnea, Bucarest.

La bibliothèque, par l'intermédiaire de laquelle s'effectuent les échanges de publications à l'intérieur du pays et à l'étranger, a l'adresse suivante: 178, Calea Victoriei, Bucarest.

ÜBER DIE VITALFÄRBUNG DER OBEREN EPIDERMISZELLEN VON *GALANTHUS NIVALIS*-ZWIEBELN

VON

EMIL POP

MITGLIED DER AKADEMIE DER RUMÄNISCHEN VOLKSREPUBLIK

und

VIOREL SORAN

Die Speicherung basischer Farbstoffe in den lebenden Pflanzenzellen wurde von W. Pfeffer [54] bereits im Jahre 1866 in einer eingehenden Abhandlung beobachtet und erläutert. Seither wurde die *Vitalfärbung* in großem Ausmaße angewendet und in den folgenden Jahrzehnten behauptete sie sich als laufende Methode in der Zytologie und Zytophysiologie, heute jedoch verspricht sie, nachdem sich ihr physikalisch-chemischer Mechanismus zu klären begonnen hat, auch in zytochemischen Versuchen ein nützliches Mittel zu werden.

Vom theoretischen Standpunkt aus hat sich dieses Problem durch sehr zahlreiche Darlegungen und Hypothesen entwickelt, über welche wir uns aber hier nicht aufhalten werden; jedoch möchten wir die neueren zusammenfassenden Arbeiten von W. Becker [3], H. Drawert [14], [16], [19] oder H. Kinzel [40], [41] erwähnen. Indem wir uns bloß auf den Speicherungsprozeß der Vitalfarbstoffe in der Vakuole der Pflanzenzellen beschränken, Prozeß der uns in unserer Abhandlung besonders interessiert, zeigen uns die zahlreichen Versuche, daß dieser Prozeß in zwei Haupttypen ablaufen kann: *1*) der Zellsaft kann sich diffus und verhältnismäßig gleichmäßig in der ganzen Vakuole färben; *2*) im Zellsaft erscheinen auf diffusem Grund verschieden geformte, besonders intensiv gefärbte und gut umrissene Körperchen.

Bei dem ersten, diffusen Färbungstypus sind gleichfalls zwei mögliche Varianten zu unterscheiden. Derselbe Farbstoff, in gleicher Konzentration und gleichem p_H kann von verschiedenen Pflanzenzellen in zwei Farbabstufungen gespeichert werden. Zum Beispiel kann das von uns

vorzugsweise verwendete Neutralrot einen Teil der Zellen gelb-ziegelrot bis erdbeerrot, hingegen den anderen Teil himbeerrot bis rotviolett färben.

Dieses Verhalten wurde im Laufe der Zeit verschiedenartig ausgelegt, wir beschränken uns hier aber nur auf die Theorie K. Höflers [36], [37], [38], die heute den größten Umlauf hat und folgende Erklärung bringt:

a) Die Zellsäfte deren Stoffe keine chemische Verbindungsfähigkeit mit Neutralrot aufweisen, können sich gelb-ziegelrot bis erdbeerrot färben; K. Höfler nannte sie „leere" Zellsäfte (Vakuolen) und gab dem Mechanismus folgende Erklärung: Der Farbstoff durchdringt das Protoplasma dank seiner Fettlöslichkeit, im Molekularzustand, undissoziiert; er dissoziiert aber sofort im leicht sauren Medium der Vakuole. So ergibt es sich, daß neue Farbstoffmoleküle eindringen können, während die nicht mehr fettlöslichen Ionen, die sich loslösen und somit den entgegengesetzten Weg, über das Zytoplasma nicht mehr zurücklegen können, an das Wassermedium des Zellsaftes gebunden bleiben und sich demzufolge aufspeichern, bis zwischen den Farbstoffmolekülen von innen und von außen ein osmotischer Ausgleich entsteht.

b) Falls der Zellsaft gewisse Zellstoffe[1] enthält, die fähig sind chemisch auf den Vitalfarbstoff einzuwirken, so erscheint eine weitere Farbenschattierung (rot-violett-himbeerrot für Neutralrot). Diese Zellsäfte wurden von K. Höfler „volle" Zellsäfte genannt. Der Färbungsmechanismus der Vakuole ist somit ein anderer: nämlich eine chemische molekulare Kombination.

Die chemische Beschaffenheit der Vakuolenstoffe welche sich im Falle der „vollen" Zellsäfte mit den Molekülen des Vitalfarbstoffes verbinden, wurde von den Verfassern verschiedenartig bestimmt. W. Pfeffer [54] betrachtet solche als Tanninstoffe oder „andere Stoffe", W. W. Lepeschkin [43], [44] und W. Ruhland [60] als makromolekulare Säuren, H. Drawert [18], [19] als Phenolderivate oder Lipoide [17], [20], A. Devaux [13] als makromolekulare Zusammensetzung, O. Härtel als Stoffe von Tannin- oder Säure-Beschaffenheit [32]. I. Thaler [65] stellt fest, daß die „volle" Art des Zellsaftes mancher Zellen von *Vanilla* und *Lilium* hauptsächlich den Lipoiden zu verdanken ist. Es ist folglich anzunehmen, daß wir es höchstwahrscheinlich mit verschiedenen organischen Stoffen zu tun haben.

Einen anderen Reaktivitätstypus weisen jene Zellen auf, bei welchen sich unter Einwirkung des Vitalfarbstoffes, verschiedenartige, intensiv gefärbte Körperchen auf dem diffusen Grunde bilden: Körnchen, Kugeln, Trauben[2], in manchen Fällen sogar kantige und eckige Kristalle. Im allgemeinen erscheinen sie in Gestalt von kleinen zitternden Körnchen die als größere unbewegliche Körperchen agglutinieren können. Sie stellen Niederschläge dar, die sich aus der chemischen Reaktion zwischen Farbstoff und bestimmten spezifischen Zellstoffen ergeben. Wollen wir jedoch

[1] „Zelleigene Stoffe" nach K. Höfler.
[2] „Staphyloide" nach E. Pop [56].

konsequent sein, so müssen wir die Zellsäfte dieses Zelltypus gleichfalls als „volle" Zellsäfte, im Sinne von K. Höfler[1] bezeichnen.

Vom physikalischen, chemischen, zytophysiologischen und genetischen Standpunkt aus ist das Erscheinen dieser interessanten Körperchen wenig bekannt. Eher wurde deren Chemismus erörtert. Die französische zytologische Schule [11], [12], [29], [30][2], beruft sich in solchen Fällen auf das Vorhandensein eines besonderen Zellstoffes u.zw. des Metachromatins. Als Zellstoffe, die mit den Vitalfarbstoffen reagieren und verschiedenartige Niederschläge ergeben, betrachten W. Pfeffer [54] das Tannin, H. Drawert [16], [19] die Phenolderivate, S. Strugger [64] die Lipoiden der Zelle, bzw. der Vakuole.

E. Pop behauptet in einer Abhandlung [56], daß die mit Neutralrot gefärbten Zellen der Potamogetonazeen vor allem aus Lipoiden bestehen. In dieser Behauptung stützt er sich auf die ausgesprochene Osmophilie und auf die mit Sudan III positive Reaktion der Staphyloiden und der Kugeln der erwähnten Zellen. Jedoch, einige positive Reaktionen mit Reagenzien der Phenol-, Tannin- oder sogar Salzsäurederivate lassen ihn neben Lipoiden auch die Anwesenheit dieser Substanzen vermuten.

Als Entstehungsort der Körperchen wird die Vakuole angegeben. Sie wurden aber auch im Plasma entdeckt, wohin sie, — nach F. Weber [68], — infolge der Plasmolyse gelangen. Bei den erforschten Potamogetonazeen stellt E. Pop verschiedene Fälle fest. Die lebhafte Brownsche Bewegung der sich bildenden Körperchen zeigt den wässrigen Zellsaft an, d.h., daß die Vakuole als Entstehungsort zu betrachten sei. Jedoch befinden sich die entstandenen Kügelchen an der Grenze zwischen Plasma und Vakuole, während im Falle der Plasmolyse sie sich offensichtlich im Plasma befinden. Bei der *Ruppia* wurden die Staphyloiden in Blattzellen gefunden, die sich im Zytoplasma lokalisierten und durch die Plasmaströmungen mitgeführt wurden [56][3].

In vorliegender Arbeit haben wir uns vorgenommen, einige von den erwähnten offen gebliebenen Fragen zu klären. Wir haben fortlaufende Beobachtungen an gefärbten Zellen, von Beginn der Einwirkung bis zur Stabilisierung der Lage der Körperchen vorgenommen, um sie in allen morphologischen und räumlichen Entwicklungsphasen zu überraschen. Wir verwendeten ein und denselben Zelltypus in verschiedenen Altersstufen und Ernährungsstadien, um auf diese Weise die Biogenesis und die eventuelle physiologische Rolle der einwirkenden Substanzen besser zu erforschen. Wir versuchten die chemische und physikalische Beschaffenheit der Körperchen mittels bestimmter mikrochemischer Reaktionen und durch andere mikroskopische Beobachtungen genau festzustellen.

---

[1] S. auch E. Küster [42].

[2] Wir bemerken, daß das Wesen des „Metachromatins" streitig ist. Selbst A. Guilliermond und P. A. Dangeard definieren es verschieden. Letzterer stellt es dem von Grimme im Jahre 1902 (Centrbl. f. Bakt., 1903) und Meyer im Jahre 1904 (Bot. Ztg.) beschriebenen „Volutin" gleich. Dieses wieder analog mit den Babeschschen Körperchen (Zeitschrift f. Hygiene, 1889 und 1895).

[3] S. 619, 624, 626, 630.

MATERIAL UND METHODE

Ein besonders geeignetes Forschungsmaterial für unser Vorhaben ist die obere Epidermis der Schuppen von Schneeglöckchen (*Galanthus nivalis*) - Zwiebeln. Sie sondert sich leicht und ohne störende Verletzung ab. Da sie bloß aus einer einzigen Zellschicht besteht, ist ihre mikroskopische Erforschung namentlich mit dem Phasenkontrast besonders bequem[1]. Es wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Zwiebeln wurden im Frühjahr aus den um Cluj (Klausenburg) gelegenen Wäldern, sowohl im Blüte- als auch im Fruchtstadium geerntet. Hierauf wurden sie in befeuchteten Hobelspänen, in Gefäße gepflanzt. Das Probematerial wurde regelmäßig alle 2 Wochen aufgefrischt, so daß im Laboratorium während der ganzen Versuchszeit, stets frische Zwiebeln vorhanden waren.

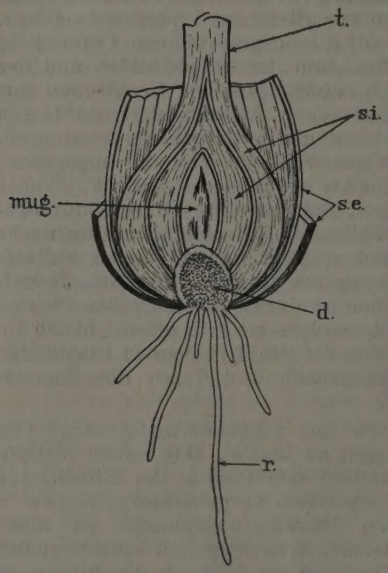


Bild 1. — Die Morphologie der Schneeglöckchenzwiebel (*Galanthus nivalis*); *r.*, Wurzeln; *d.*, Diskus; *s. e.*, äußere Schuppen (im Alter von 2 Jahren); *s. i.*, innere Schuppen (aus dem vorhergehenden Jahre); *mug.*, Knöspchen (sich bildende Schuppen); *t.*, Stengel.

Vor dem Abziehen der Epidermis wurden die Zwiebeln gut gereinigt und in der Mitte durchgeschnitten. Auf die Innenseite der abgesonderten Schuppen wurden hierauf Vierecke geritzt. Die Schuppen wurden 5—6 Minuten lang in einer Wasserstrahlpumpe mit Wasser angesaugt. Es wurden sowohl ältere — ungefähr 2 Jahre alte — Schuppen, die während der Blütezeit gewöhnlich erschöpft und weich waren, als auch jüngere aus dem vorhergehenden Jahr verwendet, die noch turgeszieren und stärkehaltig waren. (Bild 1). Nachher wurde ihnen die Innenepidermis abgehoben und sie wurden 1—20 Minuten lang in 1 : 5 000 Neutralrot bzw. in 1 : 5 000 oder 1 : 10 000 Akridinorange gelegt. Die Farbstofflösungen wurden mit Leitungswasser hergestellt und im Falle des Akridinoranges auch in Pufferlösung von neutralem p_H.

Die mit Neutralrot gefärbten Epidermisschichten wurden sowohl unter dem Durchlichtmikroskop als auch mit dem Phasenkontrast beobachtet. Für die mit Akridinorange gefärbten wurde auch eine in unserem

[1] Dieser Test wurde bisher bei Vitalfärbungen noch nicht gebraucht. Wir bemerken jedoch, daß A. Flasch [25] das Auftreten von gefärbten Kügelchen hervorgerufen hat, indem er Epidermiszellen von *Galanthus nivalis*-Stengeln mit Rhodamin B versetzte.

Laboratorium verfertigte mikroskopische Einrichtung verwendet. An das Mikroskop wurden verschiedene Filter montiert, die nur die blauen und violetten Strahlen auf das Präparat durchließen; in das Okular wurde ein orangefarbenes Filter eingelegt, welches die blauen Strahlen auffängt und dem Forscherauge nur das vom Farbstoff ausstrahlende Fluoreszenzlicht zukommen ließ.

Sämtliche Beobachtungen an dem lebenden Material wurden laut S. Struggers Empfehlungen die in seinem Praktikum für Zell- und Gewebephysiologie enthalten sind [64], durchgeführt.

Die dazu verwendeten chemischen Reagenzien waren: Äthylalkohol 96°, für die Kolloidallösungen; Sudan III in gesättigter Alkohollösung, für Lipoide im allgemeinen; Digitonin in 1%iger Alkohollösung, für Phytosterine; Methylenblau, für Gerbstoffe.

BEOBACHTUNGEN UND VERSUCHE

A. VITALFÄRBUNG MIT NEUTRALROT

Die obere Epidermis alter (ungefähr 2 Jahre alter) *Schuppen*

Die Vakuolen in der Epidermis der alten Schuppen, die in 1 : 5 000 Neutralrot gelegen sind, färben sich bereits während der ersten Minuten

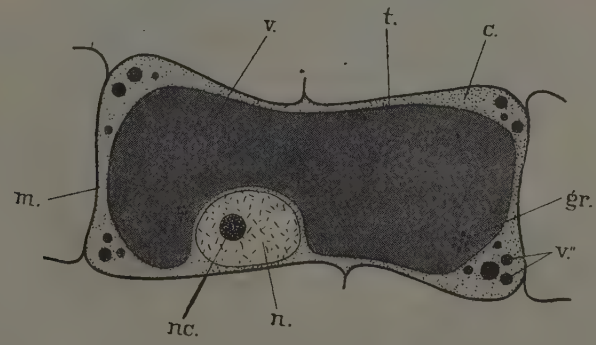


Bild 2. — Zelle aus der oberen Epidermis der Schneeglöckchenzwiebel, im Alter von ungefähr 2 Jahren, gefärbt mit Neutralrot (1 : 5 000 in Leitungswasser); *m.*, Zellwand; *c.*, Zytoplasma; *n.*, Zellkern; *nc.*, Nukleole; *v.*, Hauptvakuole; *v''.*, Nebenvakuolen; *gr.*, Farbstoffkörperchen; *t.*, Tonoplast.

in blasse, rot-ziegelrote Nuancen (Bild 2). Nachdem die Probe 10—20 Minuten in einem Farbstoffbad gelegen ist, wurde die Farbe der Vakuolen immer greller, bis zuletzt dunkelrot-ziegelrot, oder erdbeerrot.

Zugleich mit der fortschreitenden Speicherung des Neutralrots in der Vakuole, stößt diese durch leichte Kontraktion einen Teil des Zellsaftes in das Zytoplasma.

Das Phänomen der Vakuolenkontraktion wurde besonders von F. Weber [68], [69] und H. Drawert [15] studiert. Infolge dieses Prozesses, kann die Wasseraufnahme des Zytoplasmas überschritten werden und der Überschuß der Lösung aus dem Zytoplasma kann sich als kleine sphäroidische Nebenvakuolen absondern. Diese im Zytoplasma neu gebildeten Vakuolen können das Neutralrot ebenfalls aufnehmen und sich in verschiedene Schattierungen färben u.zw. organgegelb bis rotziegelrot oder rosa-violett. Die Farbenabstufungen zwischen den Nebenvakuolen unter sich und zwischen diesen und der primären Vakuole sind den verschiedenen p_H-Werten der Vakuolen zuzuschreiben. F. Weber [68] nimmt ferner an, daß die Nebenvakuolen, im Vergleich zu der Primärvakuole, andere Substanzen oder auch die gleichen, aber in verschiedenen Verhältnissen, enthalten.

Der Aspekt der Vitalfärbung der oberen Epidermiszellen alter Schuppen der Schneeglöckchenzwiebeln, veranlaßt uns, deren Vakuolen als einen „leeren" Vakuolentypus im Sinne K. Höflers [36], zu betrachten. Ihr Zellsaft enthält demnach keinerlei besondere Substanzen die sich mit dem Farbstoffe chemisch verbinden. Der Färbungsprozeß geht vor sich, infolge neuer Eindringungen von Farbstoff in molekulärer Phase.

Die obere Epidermis von jüngeren Schuppen

Der Aspekt der Vitalfärbung der Epidermiszellen von jüngeren Schuppen, die turgeszieren, unterscheidet sich wesentlich von dem der Epidermiszellen älterer Schuppen (Bild 3).

Die Vakuolen der Epidermiszellen von jüngeren Schuppen färben sich schon in den ersten Minuten lichthimbeerrötlich oder rosa-violett, gleichzeitig aber, heben sich in den Vakuolen kleine, für gewöhnlich kugelrunde, rot-weichselrot bis violett-rot gefärbte Körperchen hervor[1]. Nach ungefähr 15—20 Minuten langem Kontakt mit dem Farbstoff, wird der Zellsaft dunkelrosa-himbeerrötlich bis rosa-violett und die Kügelchen wachsen bis zu einer Größe von 3,85—19,25 μ (Bild 3, *A*) an. Die größten erreichen oder überschreiten sogar die Hälfte der Vakuolenbreite. In dieser Phase sind die Kügelchen am Vakuolenrand und sogar in Berührung mit dem Tonoplast gelegen.

In den noch vorgeschritteneren Färbungsphasen, besonders bei teilweiser Kontraktion der Vakuole und infolgedessen bei gesättigterem Zytoplasma, kann man die Kügelchen auch im Zytoplasma bemerken. Die Endlokalisierung der Kügelchen im Zytoplasma kann gelegentlich bei Versuchen mit Schuppenepidermen die gegen Ende der Vegetationsperiode gewonnen wurden, besonders deutlich dargelegt werden. In dieser Phase befinden sich im Zytoplasma zahlreiche Stärkekörner, die durch

[1] Von E. Pop [56] „rubinrote Kügelchen" genannt.

Jodreaktion (J in JK) noch deutlicher erscheinen. Wenn die Kügelchen ins Zytoplasma eindringen, werden sie öfters von einem Stärkekörnchenkranz umgeben, oder sie ordnen sich um den Zellkern (Bild 3, *B*).

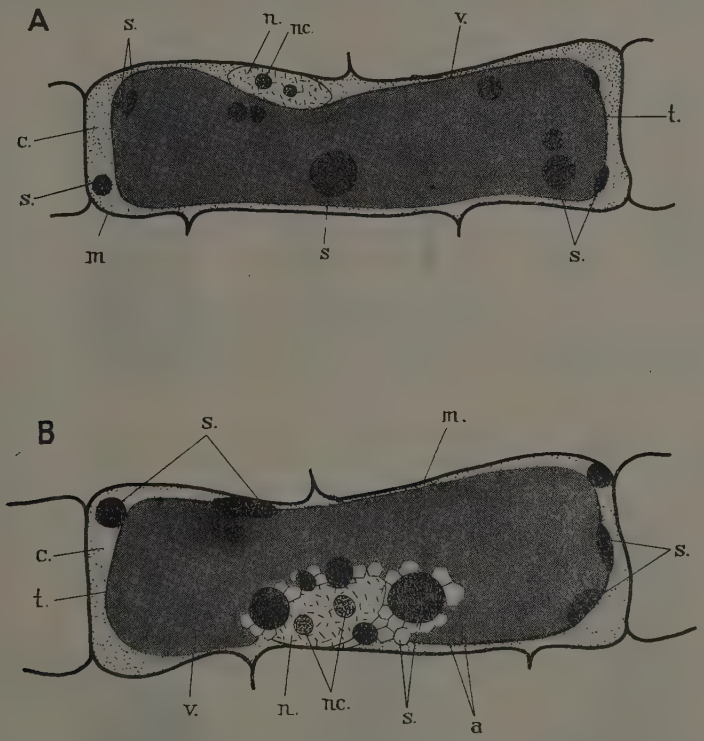


Bild 3. — *A.*, Zelle aus der oberen Epidermis der Schneeglöckchenzwiebel im Alter von ungefähr einem Jahr, gefärbt mit Neutralrot (1 : 5 000 in Leitungswasser), zu Beginn der Vegetationsperiode. *B.*, Zelle aus der oberen Epidermis eines Schneeglöckchens im Alter von 1—2 Monaten, gefärbt mit Neutralrot (1 : 5 000 in Leitungswasser) am Ende seiner Vegetationsperiode; *m.*, Zellwand; *c.*, Zytoplasma; *n.*, Zellkern; *nc.*, Nukleolen; *v.*, Vakuole; *t.*, Tonoplast; *s.*, kugelige Körperchen (rubinrote Kügelchen) von verschiedenen Dimensionen; *a.*, Stärkekörnchen.

Die Schattierung der Färbung in den Epidermiszellen junger Schuppen, sowie die Bildung gefärbter Niederschlagskügelchen, stellen einen Beweis dafür dar, daß es sich hier um „volle" Zellsäfte, im Sinne K. Höflers, handelt. Über die physikalische und chemische Beschaffenheit der sich mit dem Farbstoff verbindenden Vakuolensubstanzen wird im folgenden näher eingegangen werden.

Die Entwicklung des Speicherungsvorgangs von Neutralrot in den „vollen" Vakuolen

Dauernde und eingehende mikroskopische Beobachtungen haben uns folgende Reihe verschiedener Erscheinungen enthüllt (Bild 4).

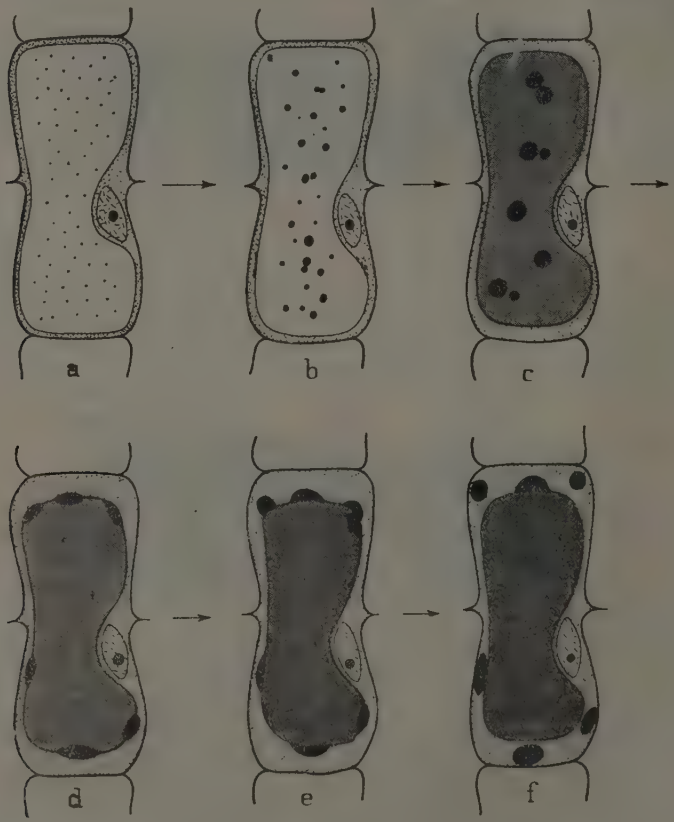


Bild. 4. — Sukzessive Speicherungsphasen von Neutralrot in Vakuolen mit „vollem" Zellsaft, aus der oberen Epidermis von Schneeglöckchenzwiebeln; *a.*, in den ersten Sekunden bis zu einer Minute; *b.*, nach 1—2 Minuten; *c.*, nach 5—15 Minuten *d.*, nach 30—40 Minuten; *e.*, nach 60—70 Minuten; *f.*, nach einer längeren Zeit.

Sobald der Farbstoff in die Vakuole eindringt, erscheinen in der Berührungszone zwischen der Vakuole und dem Zytoplasma punktförmige, äußerst kleine Körperchen ($< 0{,}7\ \mu$) (Bild 4, *a*). Sie befinden sich in

sehr lebhafter Brownscher Bewegung. Während der mikroskopischen Beobachtung auch der kleinsten Körperchen, mit dem Phasenkontrast, gewinnen wir den Eindruck, daß die Gestalt nicht endgültig ist und dass sie sich wahrscheinlich infolge der wiederholten Farbstoffeinwirkungen ändert.

Nach 1—2 Minuten langer Färbung, wachsen die Körperchen und nehmen kugelige Formen an, deren Durchmesser von 1,92 bis 3,85 μ mißt. Die stark verlangsamten Bewegungen dauern fort; diejenigen Kügelchen aber, welche während ihrer Bewegung aneinanderstoßen, verschmelzen zu einer größeren Kugel (Bild 4, *b*).

Nach 5—10 Minuten andauernder Verschmelzung der kleineren Körperchen, erreichen die entstandenen Kugeln einen Durchmesser von 11,55—15,40 μ; ihre Anzahl steht folglich mit dem Durchmesser in Wechselbeziehung (Bild 4, *c*). Nach Ablauf dieses Zeitabschnittes fällt der Überschuß des in die Vakuole eingedrungenen Farbstoffes nicht mehr in Form von neuen Körperchen aus, er kann jedoch von den bestehenden Kügelchen einverleibt werden, so daß diese ihr Volumen noch vergrößern können. Schließlich erscheint die Vakuole immer charakteristischer in schwach-rot-ziegelroten Nuancen, ein Zeichen, daß sie die Stoffe verloren hat, welche auf Neutralrot reagieren und so im Sinne K. Höflers „leer" wird.

Nach 30—40 Minuten kommen zahlreiche kugelige Körperchen mit dem Tonoplast in Berührung (Bild 4, *d*). In diesem Zustande bleiben die Körperchen, deren Durchmesser kleiner als 3,85 μ ist weiter kugelig, während die größeren platt gedrückt, mit der flachen Oberfläche am Tonoplast anliegen und mit der anderen gewölbten Oberfläche dem Zellsaft zugewendet sind. Ungefähr in dieser Phase wird auch das Phänomen der Vakuolenkontraktion, sowie jenes der Durchtränkung des Zytoplasmas beobachtet.

Es sei bemerkt, daß A. Guilliermond [30], [31], ebenfalls die Berührung des Tonoplastes von den durch Färbung mit Neutralrot entstandenen Körperchen bei *Saccharomyces ludwigii* wahrgenommen hat.

Die interessanteste Phase, die wir beobachten konnten, ist das Herübergleiten der Körperchen ins Zytoplasma durch den Tonoplast (Bild 5). Diejeningen, die sich dem Tonoplast angeschmiegt haben und eine plattgedrückte Gestalt angenommen haben, durchquerten den Tonoplast, ohne ihre Gestalt im Augenblick des Durchtritts zu ändern. Es wurden Zwischenstadien überrascht, in denen ein Teil der Körperchen schon ins Zytoplasma geglitten war, während der andere noch in der Vakuole weilte (Bild 5, *c*). Die Hälften schienen ein unteilbares Ganzes zu sein.

Beim Durchtritt wird das Körperchen gegen den Tonoplast flach und gegen das Zytoplasma konvex. Es kann sich vom Tonoplast loslösen und seine sphärische Form wieder erlangen, besonders dann, wenn es in das massivere und stärker durchtränkte Zytoplasma aus den Zellecken gelangt. Die grösseren Körperchen, sowie diejenigen, die in den dünneren plasmatischen Wandbelag gelangt sind der an den Längswänden der Zellen liegt, bleiben flach oder oval.

Nach 60—120 Minuten sind die meisten Körperchen im Zytoplasma lokalisiert.

Wenn die Epidermisfragmente weiter im Farbstoff verbleiben, so speichert sich dieser derart auf, daß er durch die Körperchen nicht mehr zurückgehalten werden kann und schließlich ins Zytoplasma dringt, dasselbe vergiftet und allmählich dessen Tod verursacht.

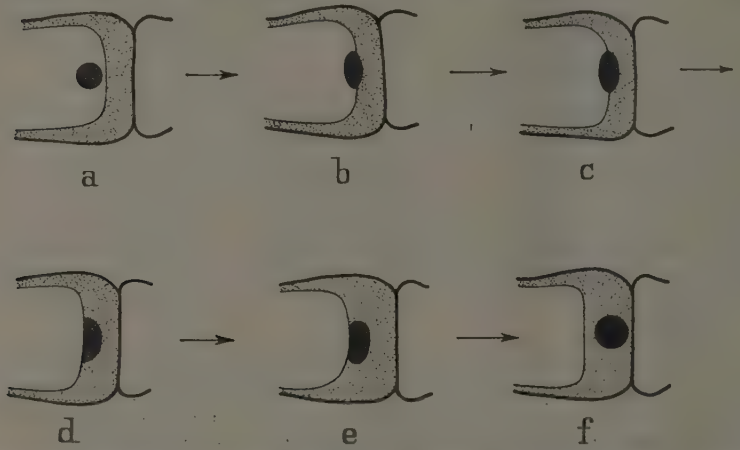


Bild. 5. — Einzelheiten über die verschiedenen Phasen der Durchquerung des Tonoplastes von den Kügelchen und deren spätere Lokalisierung im Zytoplasma.

Genesis und Verhalten der kugeligen Körperchen, vom physikalischen Standpunkte

Durch die Ergebnisse der bisher durchgeführten mikroskopischen Beobachtungen und mikrochemischen Versuche haben wir den Eindruck gewonnen, daß die beschriebenen Kügelchen aus verschiedenen Lipoiden bestehen oder überwiegend aus Lipoiden die sich — noch vor der Färbung mit Neutralrot — aller Wahrscheinlichkeit nach in einem Kolloidkomplex im Zellsaft verstreut befinden. Wir betrachten die Tatsache als wahrscheinlich, daß das Neutralrot dank seiner betonten Lipophilie die Lipoidgruppierungen (fette Säuren, Phospholipoiden, Phytosterine) den Kolloidalkomplexen entreißt und sich mit ihnen zuerst in Gestalt von submikroskopischen Niederschlägen verbindet. Nach einigen Sekunden nehmen sie an Größe zu, so daß sie unter dem Mikroskop als kleine gefärbte, sehr bewegliche Punkte sichtbar werden. Ihr Volumen nimmt durch Zusatz von neuem niedergeschlagenem Material zu, bis sie die typische Form einer Kugel annehmen, deren Verhalten im Vakuolensaft demjenigen der Öltropfen in einer Emulsion analog ist. Anfangs, wenn

die Kügelchen klein sind, ist der Zerstreuungs- und Oberflächenspannungsgrad im Innern der Emulsion, hoch. Demnach ist die Stabilität der Körperchen und also des ganzen Emulsionssystems gering. In dieser Phase gelangen die sich in Brownscher Bewegung befindenden kleinen Kügelchen miteinander in Berührung. Dank der Oberflächenspannungskräfte verschmelzen diese zu größeren Sphären, nämlich in jene geometrische Form, bei welcher für ein gewisses Volumen die kleinste Oberfläche erreicht wird. Je mehr die Körperchen zusammenfließen, umso geringer wird der Zerstreungs- und Oberflächenspannungsgrad des Systems. Demzufolge vermindert sich die Möglichkeit eines Aneinanderstoßens im Verhältnis zur Distanz und das ganze System wird stabiler.

Diese physikalisch-molekulare Analyse beweist uns, daß der ganze Verschmelzungsprozeß der kleineren Körperchen in größere Kugeln, dem Gesetz der Selbstzerstörung der unstabilen Emulsionen unterliegt. Das Gesetz lautet: *Das System das einen höheren Dispersionsgrad und eine größere Oberflächenenergie besitzt, ist bestrebt in ein System kleinerer Dispersion überzugehen, das eine mindere Oberflächenenergie besitzt.*

Da wir den Zellsaft als eine hydrophile Flüssigkeit und die kugeligen Körperchen als Lipoidtropfen betrachten, wäre zu erwarten, daß diese von dem umgebenden Medium durch mono- und bimolekulare Häutchen, die in einem gewissen Maße denen des Tonoplastes ähnlich sind, getrennt werden.

Im Lichte dieser Betrachtungen können wir das Durchdringen des Tonoplastes seitens der kugeligen Körperchen leichter erklären.

Indem wir von der Annahme ausgehen, daß die vakuolären Kügelchen und der Tonoplast, die vom chemischen Standpunkt aus einander verwandt sind, auch vom physikalischen Standpunkt aus ähnliche Häutchen haben, wird ihre starke gegenseitige, durch mikroskopische Beobachtungen bestätigte Adhäsionsfähigkeit verständlicher.

Wir haben festgestellt, daß in der Phase des Kontaktes mit dem Tonoplast die Form der klein gebliebenen Sphären sich wenig ändert, da die Kohäsionskräfte der Molekülen im Innern derselben derart verteilt sind, daß sie die Adhäsionskräfte zum Tonoplast ausgleichen. Bei den größeren Kugeln ist die Kohäsionskraft der Moleküle die solche bilden, geringer als die Adhäsionskraft des Tonoplastes; aus diesem Grunde nehmen sie gleich nach der Berührung mit der Oberfläche des Tonoplastes eine flachgedrückte Form an.

Es folgt der Durchgangsprozeß der Kügelchen durch den Tonoplast und das Ablösen von diesem um sich im Innern des Zytoplasmas zu lokalisieren. Im Laufe dieses Prozesses weisen weder der Tonoplast noch die flachgewordenen Sphären irgendwelche Schädigungen oder andere morphologische Änderungen auf.

Die mikroskopischen Beobachtungen schließen darauf, daß der Übergangsmechanismus eine molekulare Filtrierung der Sphärenmasse durch die Tonoplastmoleküle ist.

Wenn wir in Betracht ziehen, daß beide Körper aus gleichen Substanzen bestehen, so ist vom physikalischen Standpunkt aus die mole-

kulare Dislokation der Kügelchen durch das molekulare System des Tonoplastes vorstellbar. Doch infolge der Dissolution bleibt die Sphärenmasse nicht im Tonoplast einverleibt, sondern in dem sie sich vom Tonoplast loslöst, dringt sie ins Zytoplasma. Dieser Prozess ist irreversibel, da die Bewegung nur in eine Richtung hin gerichtet ist. Die Bewegung kann nur durch den Eintritt einer oder einiger Kräfte zugelassen werden.

In diesem Zusammenhang können zwei wirkende Kräfte in Betracht gezogen werden. Es ist bekannt, daß die Phase des Kügelchendurchgangs durch den Tonoplast mit einer Vakuolenkontraktion zusammenfällt, im Verlaufe welcher ein Teil des Zellsaftes ins Zytoplasma ausgestoßen wird. Die infolge der Vakuolenkontraktion entstandene Stoßkraft gegen den Vakuolensaft übt natürlich auch auf die Kügelchen denselben Druck aus und zwingt sie auf diese Weise durch den Tonoplast zu wandern.

Die von R. Chambers und M. J. Kopac [8], dann von M. J. Kopac allein (zitiert nach [28]), an den *Arbacia*-Eiern durchgeführten Versuche, lassen annehmen, daß auch die Oberflächenspannungskräfte bei der Verschiebung der Kügelchen aus der Vakuole durch den Tonoplast ins Zytoplasma mitwirken. Die beiden Verfasser stellen fest, daß ein Öltropfen in Berührung mit der Plasmahaut des *Arbacia*-Eies seine sphärische Form verliert und sich kalottenförmig an die Haut anlegt. Nach einer gewissen Zeit wird die Kalotte an der anderen Seite der Membrane, innerhalb des Zytoplasmas bemerkbar. Die genannten Verfasser erklären den Vorgang durch den Oberflächenspannungsunterschied zwischen dem Plasmalemma und dem Zytoplasma; infolge der Kräfteschwankungen wandert der Öltropfen ins Zytoplasma, wo die Oberflächenspannung kleiner ist.

Der Übergang der Kügelchen aus dem Tonoplast mit großer Oberflächenspannung (Lipoiden!) ins Zytoplasma mit kleiner Oberflächenspannung entspricht gänzlich dem von R. Chambers und M. J. Kopac durchgeführten Versuch; deren Erklärung durch die Oberflächenspannungskräfteschwankungen läßt sich als völlig logisch erweisen. Es ist anzunehmen, daß diese physikalische Kraft unter Mitwirkung der physiologisch bedingten Kraft durch die Vakuolenkontraktion arbeitet.

Schließlich wird die ovale (abgeflachte) nicht sphärische Form, jener ursprünglich sphärischen Körperchen, die nach dem Durchtritt durch den Tonoplast, in die der Zelle entlang gelegene Zytoplastschicht eingedrungen sind, verhältnismäßig leicht erklärlich (Bild 3, 4, 5). Diese ausgedehnte Schicht ist gewöhnlich dünner als der Durchmesser der durchgedrungenen Kügelchen. Die ursprünglich kugeligen, zwischen den beiden plasmatischen Häutchen (Tonoplast und Plasmalemma) eingeschlossenen Körperchen, nehmen eine flachgedrückte Gestalt an, da die Adhäsionskraft der beiden Häutchen die Oberflächenspannungskraft und die innere molekulare Kraft überwiegt, welche unter anderen Verhältnissen die molekularen Körperchen nötigt, jene Form anzunehmen, deren Oberfläche für deren Volumen am kleinsten ist, nämlich eine Kugel.

Bildung der Kristalle und der unregelmäßigen Formen bei Vitalfärbung mit Neutralrot

Im Laufe der Zeit haben eine Reihe von Forschern [27], [45], [46], [55], [57], [58], [59], das Erscheinen verschiedenartig geformter Kristallle nach Vitalfärbung im Zellsaft bemerkt.

Wir haben dieser Frage eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet, indem wir uns vorgenommen haben, sie in ihrer Farbentwicklung zu beobachten und ihre physikalische und physiologische Ursache zu erforschen.

Bei Färbung mit Neutralrot, beobachteten wir meistens oder ausschließlich an dem Material alter Zwiebeln, welche lange in mit Holzspäne gefüllten Gefäßen gehalten wurden und deren luftausgesetzten Teile gelb und welk waren, das Erscheinen von nichtkugeligen oder kristallinen Körperchen. Das Erscheinen der erwähnten Gebilde hängt demnach mit einem unausgeglichenen physiologischen Zustande, in welchem die katabolischen Prozesse vorherrschen, zusammen. Dank dieser Prozesse waren inzwischen bestimmte chemische Stoffe aus den Vakuolen der untersuchten Epidermen, die bei frischeren Zwiebeln aber noch anwesend waren, verbraucht.

In Bild 6 stellen wir die wichtigsten Körperchentypen, die in dieser Versuchsreihe beobachtet wurden, dar. Sie können in vier morphologische Grundtypen zusammengeschlossen werden: *a*) kugelige Körperchen, *b*) spindelförmige Körperchen, *c*) Kristalle und *d*) Körner.

Aus den kugeligen Körperchen lassen sich die mit unregelmäßig sphäroider Form (Bild 6, *c*, z. T. *d*), die zu Reihen vereinten (Bild 6, *b*) oder die unregelmäßige Gebilde mit stachelförmigen Anhängseln (z. T. Bild 6, *d*) ableiten. Die Reihen sphäroider Körperchen entstehen z.B. wie folgt: Nach dem Eindringen des Farbstoffes in die Vakuolen entstehen kleine ovale Körperchen, die sich anfangs in einer sehr lebhaften Bewegung befinden. Durch die Absorption des Farbstoffes wächst ihr Volumen an, ohne daß sie jedoch ihre ovale Form verlieren. An den Enden aber, an der Verlängerung der Längsaxe, erscheinen stachelförmige Anhängsel. In vorgeschritteneren Phasen, vereinen sich die Anhängsel zu je zwei durch ihre Enden und so entstehen die Reihen (Bild 6, *b*). Es wäre zu bemerken, daß die Reihen an den gewölbten Stellen weichselrot und an den durch die Einigung der Anhängsel verdünnten Teilchen hellgelb sind.

Auf dieselbe Weise bilden sich auch die spindelförmigen Körperchen (Bild 6, *e*), welche Reihen ergeben können, wenn ihre Verkettung an den Enden stattfindet, oder blattförmige (Bild 6, *g*) und sichelförmige (Bild 6, *f*) Formationen, wenn Reihen sich seitlich aneinander schließen.

Unter den durch die Vitalfärbung der in den Zellen der oberen Zellhautschicht von Zwiebelschuppen des Schneeglöckchens erschienenen *Kristallen*, unterscheiden wir zwei Typen: nadelförmige und polygonale.

Die nadelförmigen Kristalle erscheinen in den Vakuolen schon während der ersten Sekunden und befinden sich in sehr lebhafter Bewegung, welche aber nicht zur Verlagerung derselben führt. Daraus wäre zu entnehmen, daß die „tänzelnde" Bewegung der Kristalle den heftigen

Bild 6. — Der morphologische Aspekt verschiedener Formationen die in den epidermalen Zellvakuolen von *Galanthus nivalis* unter Einwirkung von verdünnter Neutralrot-Lösung (1 : 5 000) erscheinen können ; *a*., Kügelchen ; *b*., in Reihen vereinte Kügelchen ; *c*., deformierte Kügelchen und andere unregelmäßige Formen mit stachelförmigen Anhängseln ; *e*., spindelförmige einfache Formationen und solche die in Reihen vereint sind ; *f*., große spindel- und sichelförmige Formationen ; *g*., blattförmige Formationen ; *h*., von nadelförmigen Kristallen durchdrungene Kügelchen ; *i*., nadelförmige Kristalle ; *j*., verschiedene Kombinierungen von nadelförmigen Kristallen ; *k*., rhombische, hexagonale, rechteckige und unregelmäßige polygonale Kristalle in Blattform ; *l*., ein hexagonales Kristall mit einem nadelförmigen ; *m*., hexagonales Kristall als Anhängsel einer unregelmäßigen Formation ; *n*., ein hexagonales Kristall als Anhängsel einer spindelförmigen Reihe ; *o*., unregelmäßige Granulationen ; *p*., ornamentierte Formationen ; *r*., sternförmige Formationen.

Zusätzen, an ihre Oberfläche, von neuen Partikeln, die durch die chemische Reaktion zwischen Farbstoff und den Substanzen aus der Vakuole entstehen, zu verdanken ist.

Die nadelförmigen Kristalle sind gewöhnlich hell- oder orangegelb.

Der polygonale Typus besteht gewöhnlich aus hexagonalen, aber auch rhombischen, rechteckigen oder sogar unregelmäßigen Platten (Bild 6, *k* und *i*).

Sie sind zuweilen von bedeutender Größe, die zwischen 19,25 bis 57,75 μ Länge und 7,70 bis 23,10 μ Breite schwankt. Im Vergleich zu den nadelförmigen sind sie hellrosa oder lichthimbeerrosa. Wie die gewöhnlichen, aus einer kristalloiden Mutterlösung entstandenen Kristalle wachsen diese durch Addition.

In manchen Fällen können sich die polygonalen Kristalle langsam in sphärische Körperchen umwandeln (Bild 7). Der Prozeß beginnt und entfaltet sich wie folgt: An irgend einer Stelle des Kristallpolygons erscheint ein kleiner weichselroter Punkt. Der Punkt zehrt ständig von der Kristallmasse, nimmt dadurch zu und wird kugelförmig, bis er den Raum des Kristalls ganz einnimmt. Unseren Beobachtungen entsprechend genügt ungefähr eine Stunde, zur Umwandlung verschiedener polygonaler Kristalle in sphärische oder andersförmige Körperchen.

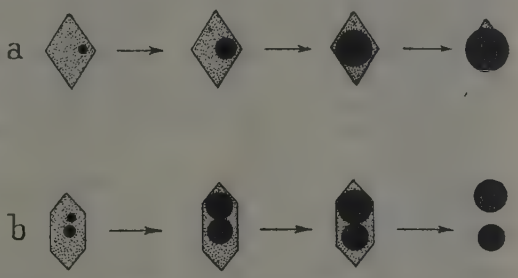


Bild 7. — Umwandlung eines polygonalen Kristalles in Kügelchen; *a.*, sukzessive Reihe der Umwandlung eines rhombischen Kristalls in ein Kügelchen; *b.*, sukzessive Reihe einer Umwandlung eines hexagonalen Kristalls in Kügelchen.

Eine weitere Reihe von Versuchen beweist, daß das Erscheinen der einen oder der anderen der morphologischen Körperchentypen von der Konzentration des Farbstoffes abhängt. Bei größeren Konzentrationen (z. B. 1 : 2000) bilden sich vorzüglich Kügelchen, hingegen bei kleineren Konzentrationen (z. B. 1 : 20 000) Kristalle.

Schließlich bilden sich in der von älteren Zwiebeln abgenommenen Epidermis des öftern auch *unregelmäßige Körperchen* oder *kleinkörnige Gebilde* (max. 3,85 μ!) die oft mit kleinen Stacheln besetzt sind (Bild 6, *o* und *p*). Sie sind gewöhnlich braun oder ziegelrotbraun.

In sehr seltenen Fällen, bei Anwendung von Neutralrot in alkaliner Pufferlösung können sich zuweilen auch *sternförmige* Körperchen, mit einem Durchmesser von 11,55—19,25 μ (Bild 6, *r*) bilden.

Physikalische Erklärung der Entstehung nichtsphärenförmiger Körperchen und der Kristalle

Die sphärischen, durch Vitalfärbung in den Vakuolen erschienenen Körperchen, stellen wie gesagt, flüssige Tropfen dar und ihre Gestalt steht in Übereinstimmung mit den Oberflächenspannungsgesetzen, welche für Flüssigkeiten kennzeichnend sind. Damit nicht sphärenförmige Körperchen entstehen können, sind stärkere Kräfte als die der Oberflächenspannung notwendig, welche die Entstehung der Sphären verhindern sollen und das Präzipitat auf diese Weise zwingen andere Formen anzu-

nehmen. Diese stärkeren Kräfte sind durch die innere ausgerichtete Molekülenanziehungskraft erzeugt. Wann die Kräfte der molekularen Interaktion vorzugsweise in einer gewissen Richtung tätig sind, entstehen ausgerichtete Strukturen, welche zur Kristallbildung führen.

Im Falle der nichtsphärenförmigen Körperchen und insbesondere der Kristalle die in den Vakuolen bei der Färbung mit Neutralrot erscheinen, müssen wir zugeben, daß die Molekülen des Systems, welches durch die Verbindung von Neutralrot mit bestimmten Zellsaftsubstanzen entsteht, einer bestimmten räumlichen Ordnung unterliegen.

Es ist selbstverständlich anzunehmen daß die Vakuolensubstanzen, durch deren Einwirkung die nichtspärischen Körperchen oder Kristalle entstehen, nicht mehr dieselben oder nicht nur dieselben sind, welche zur Bildung der kugeligen Körperchen in der Epidermis der jungen und frischen Schuppen beitragen.

Zum Unterschied von den kugeligen Körperchen, verhalten sich die nichtkugeligen, insbesondere die der beobachteten Kristalltypen, in einem gewissen Maße wie feste Körper.

In dieser Gedankenreihe bemerken wir ihre molekulare Kohäsionskraft, die der Adhäsionskraft des Tonoplastes soweit überlegen ist, daß sich dieser Körperchentypus niemals an den Tonoplast anlegt. Sie verfügen nicht, wie die Sphären, über mono- oder bimolekulare lipoidische Häutchen, die ihnen wenigstens einen Beginn von physikalischer Verbindung mit dem Tonoplast gestatten würde. Hingegen aber, veranlasst uns die Feststellung, daß sich diese Körperchen manchmal in merkwürdige Gebilde (Bild 6) zusammenschließen können, sowie die Fähigkeit, einiger sich in flüssige sphärenförmige Körperchen zu verwandeln (Bild 7) dazu diese nicht als eigentliche feste Körper, sondern als „flüssige Kristalle" zu betrachten [26], [51], [67]. Diese stellen zwischen dem flüssigen und dem festen Zustand eine Zwischenstufe bzw. eine „Mesophase" dar.

Gemäß der von Bernal und Crowfoot (1933) (zitiert nach [63]), Vorländer (1936) (zitiert nach [26]), E. M. Chanot und C. W. Manson [9], F. C. Stewart [63], C. Sterling [62], durchgeführten Forschungen entstehen die flüssigen Kristalle vornehmlich aus verschiedenen Estern, Seifen oder sterinartigen Substanzen.

Diese Feststellungen gestatten uns die Ursache der Entstehung der nichtsphärenförmigen Körperchen und ganz besonders der in unseren Versuchen beobachteten Kristalle deutlicher zu erforschen. Durch die Verbindung des Neutralrots mit bestimmten, insbesondere sterinartigen lipoidischen Verbindungen können Verbindungen jener Art entstehen, die von den genannten Verfassern beobachtet wurden und fähig sind, flüssige Kristalle zu bilden. Die rhombische und hexagonale Form einiger der beobachteten Kristalle läßt uns annehmen, daß die Lipoidkomponenten Phytosterine sind, welche gewöhnlich in diesen Formen kristallisieren. Es bliebe noch ein Problem zu erforschen, nämlich die metabolische, d. h. physiologische Ursache der Umwandlungen, die in den Epidermiszellen junger aber abgestandener Schuppen stattfinden, in welchen die Substanzen die auf Neutralrot reagieren, nicht mehr dieselben sind, wie bei jungen aber frischen Schuppen.

B. VITALFÄRBUNG MIT AKRIDINORANGE

Dasselbe pflanzliche Material färbten wir mit Akridinorange in wässrigen Lösungen von 1 : 5 000 und 1 : 10 000 oder in Pufferlösungen mit einem p_H von 7,0—7,1. In Bild 8 sind verschiedene nacheinander folgende Phasen der Aufnahme dieses Farbstoffes durch die Zellen illustriert.

Im Falle der Epidermiszellen von *jungen Schuppen*, entfaltet sich der Speicherungsprozeß, im allgemeinen, wie bei den Versuchen mit Neutralrot.

Mit Farbstofflösungen 1 : 5 000 in destilliertem Wasser mit Pufferlösungen bei einem p_H von 7,0—7,1 findet die Speicherung wie folgt statt:

Schon während der ersten Sekunden bis zu einer Minute, erscheinen in den Vakuolen zahlreiche kleine sphärenförmige Körperchen (Bild 8, *a*), u. zw. viel zahlreicher als bei Vitalfärbung mit Neutralrot. Sie füllen die Vakuole fast gänzlich aus und befinden sich in einer gleichen sehr lebhaften Bewegung.

In den nächsten 3—5 Minuten verschmelzen sehr viele Körperchen in Kügelchen, mit einem Durchmesser von 1,92—3,85 μ und mit verlangsamten Bewegungen. Sie sind meistens lichtorange gefärbt im Gegensatz zur Farbe des Zellsaftes der hellgelb oder grünlich gelb ist. Bei einigen Zellen findet sogar in diesem Stadium die Vakuolen-

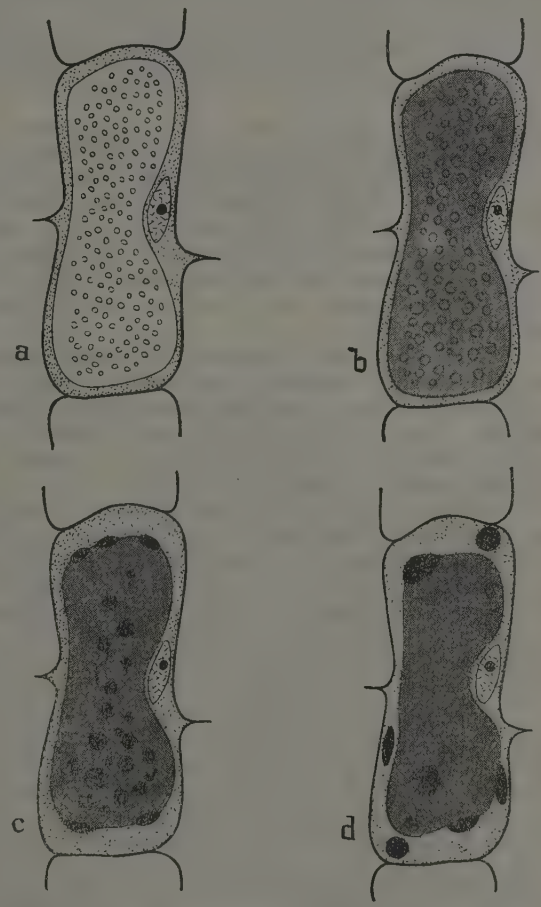


Bild 8. — Aufeinanderfolgende Phasen der Akridinorange-Speicherung in Vakuolen mit „vollem" Zellsaft, aus der oberen Epidermis von *Galanthus nivalis*; *a.*, in den ersten Sekunden bis 3—5 Minuten; *b.*, nach 15—20 Minuten; *c.*, nach 30—40 Minuten; *d.*, nach einer Stunde.

kontraktion statt, was darauf zurückzuführen ist, daß das Akridinorange für die Zelle giftiger ist als das Neutralrot.

Nach ungefähr 20 Minuten vom Beginn der Färbung bilden sich immer noch sphärenförmige Körperchen. Die älteren werden entweder durch Zusammenfließen mit anderen, mit denen sie in Berührung kommen, oder durch Adsorption des Farbstoffes aus dem Zellsaft größer. Ihre Zahl bleibt trotzdem hoch (Bild 8, *b*). In dieser Phase erreichen sie im Durchmesser 7—8 μ.

Nach 40—50 Minuten, bilden sich keine neuen Körperchen; die Anzahl der bestehenden sinkt andauernd infolge ihres Zusammenfließens zu immer größer werdenden Sphären, deren Durchmesser sogar 15,40 μ erreicht. Ihre Farbe schwankt jetzt zwischen tieforange und zitronengelb, wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Volumen des aufgespeicherten Farbstoffes. Die größeren Kügelchen sind insbesondere heller. Inzwischen dauert die Vakuolenkontraktion fort und ein Teil der Körperchen strebt gegen den Tonoplast oder ist sogar dabei ihn zu durchqueren (Bild 8, *c*).

Schließlich, nach ungefähr einstündiger Färbung nehmen die Sphären immer an Volumen noch zu (bis zu 38,50 μ im Durchmesser), während ihre Zahl abnimmt. Eine beträchtliche Anzahl von Sphären hat den Tonoplast durchquert: sie befinden sich im Zytoplasma, wo sie oft abgeflacht sind (Bild 8, *d*). Die Vakuole fängt an sich intensiver in zitronengelbe Nuancen zu färben.

Mittels eines an das Durchlichtmikroskop angebrachten Filtersystems wurde die Fluoreszenz des Akridinoranges in den Präparaten zum Vorschein gebracht. In dem auf diese Weise erzielten blauen Licht, erscheint der in der Vakuole diffus aufgespeicherte Farbstoff in einer nicht leicht wahrnehmbaren grünlich-gelblichen Fluoreszenz. Die Kügelchen weisen gewöhnlich eine lebhafte kupferrote Fluoreszenz auf. Nach W. I. Alexandrows [2] treffendem Vergleich erscheinen sie in der Dunkelfeldbeleuchtung unter dem Mikroskop wie glühende Kohlen.

Der von uns im blauen Licht beobachtete Aspekt der Vitalfärbung mit Akridinorange stimmt mit dem von K. Höfler [36], [37], [38] bei den „vollen" Vakuolen, mit demselben Farbstoff unter dem Fluoreszenzmikroskop im ultravioletten Licht erhaltenen überein. Folglich ist es offensichtlich, daß sowohl die entstandenen Körperchen, als auch der diffus gefärbte Grund der Vakuolen einer chemischen Verbindung zwischen Farbstoff und gewissen chemischen Substanzen des Zellsaftes zu verdanken ist.

Bei Färbung mit Akridinorange entstanden in den Vakuolen immer nur kugelige Körperchen, keine anderen Typen wie mit Neutralrot. Daraus schließen wir, daß auch die dem Farbstoff eigenen Molekülen die Gestalt der Körperchen bestimmen können. Jedenfalls ist bekannt, daß z. B. das Akridinorange lipophiler als das Neutralrot ist, folglich aus den kolloidalen Komplexen mehr Lipoiden entziehen könnte, als das Neutralrot.

C. MIKROCHEMISCHE REAKTIONEN UND DEREN ERLÄUTERUNG

Wenn wir die in diesen soeben erörterten Versuchen verwendeten Zellen mit 96 °igem Alkohol behandeln, stellen wir fest, daß in ihren Zellsäften ein Niederschlag von kleineren oder größeren Körnchen erscheint, die als fest aussehende graue, fast den ganzen Vakuolenraum einnehmende Masse, zusammengedrängt sind. Die Reaktion ist für Kolloidallösungen allgemein.

Wenn wir die Zellen mit dem gleichen Reagens behandeln, aber erst nach der Entstehung der durch Färbung mit Neutralrot erzielten Körperchen, erscheint die gleiche, für Kolloide positive Reaktion, ein Beweis dafür, daß dieselben durch die Vitalfärbung nicht in ihrer Gesamtheit in Anspruch genommen waren und daß sie völlig an dem Bau der erörterten Körperchen teilnahmen. Zugleich wirkt der Alkohol auf die entstandenen Körperchen, d.h. auf die sie zusammensetzenden Stoffe, in den ersten Minuten nicht.

Behandeln wir, hingegen die Zellen, welche den Test unserer Versuche darstellen, mit dem allgemeinen Reagens für Lipoide, u.zw. mit Sudan III, erzielen wir in der Vakuole eine kategorisch positive Reaktion in Form von kugeligen oder verzweigten roten oder rot-bräunlichen Körperchen und im Zytoplasma kleine weichselrötliche Kugeln. Folglich sind die Lipoide in der Vakuole anwesend, aber nicht in freiem Zustand, da sie vor der Färbung nicht als kleine, glänzende, kennzeichnende Tropfen erscheinen. Daraus schließen wir, daß die Lipoide sich in den hier erörterten Zellvakuolen als Komplexe in kolloidalem Zustand befinden.

Die angewendeten Vitalfarbstoffe besitzen eine sehr betonte Lipophilie und entreißen wahrscheinlich diesem kolloidalen Komplex den lipoidischen Bestandteil, indem sie auf ihn selektiv einwirken.

Das Digitonin (in 1% iger Lösung in 96° igem Alkohol) bringt schließlich in den Vakuolen eine Sonderkategorie von Lipoiden zum Vorschein: die Sterine. Wenn wir ein Epidermisfragment in einen Tropfen Reagens legen, bilden sich daran herum kennzeichnende nadelförmige Kristalle. Im Innern der Vakuolen erscheinen Niederschläge in Gestalt von groben Körnern, die außer der Anwesenheit der Sterine, wahrscheinlich auch die der Phospholipoiden anzeigen. Wir bemerken, daß das Digitonin auch die Zerstörung des Tonoplastes bewirkt, da es mit den Phytosterinen und den Phospholipoiden, welche an dessen Zusammensetzung teilnehmen, reagiert [1].

Die Kugelform der nach der Färbung erscheinenden Körperchen und der Prozeß des Zusammenfließens, weisen darauf hin, daß sie eine Lipoid- oder vorherrschend Lipoidbeschaffenheit haben.

Das Durchqueren des Tonoplastes von den sphärenförmigen Körperchen, das dem Durchtritt von Öltropfen durch die plasmatische Membran ähnelt, spricht gleichfalls für die lipoidische Art der Körperchensubstanzen. Außerdem führt dieser Prozeß zur Annahme, daß die Sphä-

[1] Die negative Reaktion mit Methylenblau läßt uns die Abwesenheit der Gerbstoffe im Zellsaft vermuten und folglich auch deren Teilnahmslosigkeit an der Entstehung der Körperchen.

ren, die so leicht auch größere Flächen des Tonoplastes überqueren, Stoffe enthalten dürften, die mit denen des Tonoplastes verwandt sind, hauptsächlich Phospholipoide und Phytosterine, so wie es übrigens die Reaktion mit Digitonin beweist.

Die Bildung, in gegebenen Fällen, von flüssigen Kristallen, beweist gleichfalls die Anwesenheit lipoidischer Substanzen, die fähig sind verschiedene Ester ganz besonders mit Neutralrot zu bilden. Das Erscheinen von Kristallen als hexagonale und rhombische Platten, ist ein sicheres Anzeichen für die Anwesenheit der Phytosterine.

ERÖRTERUNGEN IM ZUSAMMENHANGE MIT EINIGEN ERGEBNISSEN

Die im Laufe vorliegender Versuche sich ergebenden morphologischen physikalischen und chemischen Feststellungen beziehen sich auf Tatsachen die in den oberen Epidermiszellen der Schuppen von Schneeglöckchenzwiebeln in verschiedenen Altersstufen und in verschiedenen physiologischen Zuständen stattfinden. Sie können keinesfalls verallgemeinert werden. Wir werden aber versuchen, sie auf die Ergebnisse anderer ähnlicher Versuche zu beziehen, um die Tragweite deren Geltung zu prüfen.

Die Voraussetzung, daß in den untersuchten „vollen" Vakuolen einiger Kolloidalkomplexe mit schwacher Bindung, diese sich gleich nach Berührung mit dem Farbstoff löst und auf die Weise den lipoidischen Bestandteil der mit dem Molekül des Farbstoffes reagiert, frei stellt, ist die Arbeitshypothese welche die Grundlage einiger theoretischer Betrachtungen dieser Mitteilung bildet.

M. Mirande [47], [48], [49], [50] fällt in den Vakuolen verschiedener Arten von *Lilium* Phosfatide und Sterine neben Proteinen aus, ohne sich aber zu äußern, ob vor der Fällungsreaktion die beiden Substanzentypen gesondert oder zusammengesetzt waren. In zahlreichen Fällen wurden Vakuolenlipoide, jedoch ohne gleichzeitige Erwähnung von Proteinen, erörtert. Wir betrachten ferner, daß die von verschiedenen Verfassern festgestellten Vakuolenlipoide in freiem Zustand im flüssigen Medium des Zellsaftes nicht bestehen könnten, sondern nur in Tropfenform, was von den betreffenden Verfassern nicht hervorgehoben wurde. Die erwähnten Lipoide dürften sich folglich in den unbehandelten Vakuolen chemisch gebunden und versteckt befinden. Demnach nehmen wir an, daß in den Fällen, in denen Vakuolenlipoide, in Tropfen- oder Elaioplastengestalt unindividualisiert entdeckt wurden, ihre kolloidale Dispersion als glaubhaft erscheint.

Dennoch betonen wir bei dieser Gelegenheit, daß unsere mikrochemischen Stichversuche für die Identifizierung der organischen Stoffe im Vakuolenkolloid aus den Hautschichten, mit welchen wir gearbeitet haben unzulänglich sind um eingehendere und genauere Bestimmungen über die Chemie und Physiologie der Zellen zu machen. Wir nehmen uns vor, zumindest in diesem Falle, unsere Forschungen zu erweitern.

In unseren Versuchen, in welchen wir den Entwicklungsprozeß der Entstehung, des Wachstums, der Bewegung usw. der in den Zellen durch Vitalfärbung erscheinenden Körperchen verfolgt haben, ist es uns gelungen die strittige Frage der Entstehungsstelle der Körperchen und wo sich diese lokalisieren, zu lösen. Es wurde genau festgestellt, daß sich sowohl die kugeligen als auch die nichtkugeligen Körperchen verschiedener Typen nur in den Vakuolen bilden. Unter anderem, wird dadurch die Meinung W. I. Alexandrows [2] bestätigt, wonach bei den pflanzlichen Zellen, — im Gegensatz zu den tierischen — die basischen Farbstoffe niemals *de novo* im Protoplasma selbst, „sedimentare Körner" bilden. Unsere Beobachtungen zeigen aber gleichzeitig die wahre Grundlage der Behauptungen anderer Verfasser, laut welcher, die gefärbten Körperchen im Zytoplasma erscheinen oder lokalisiert sind. Wir haben wahrgenommen, daß ihre Entstehung ein ausschließliches Vakuolenphänomen ist, jedoch können die kugeligen nach einer gewissen Zeitspanne, in verhältnismäßig großer Anzahl ins Zytoplasma dringen und sich dort endgültig festsetzen. Wir haben gleichzeitig den Mechanismus und die wahrscheinlichen Imigrationskräfte der kugeligen, ursprünglichen Vakuolenkörperchen, ins Zytoplasma erörtert.

Wir haben ferner gesehen, daß auch bei Färbung der leeren Vakuolen, im Zytoplasma, infolge übermäßiger Tränkung desselben mit Zellsaft, kleine, vitalfarbstoffspeichernde Nebenvakuolen erscheinen können.

Vorliegende Untersuchungen können zur Diskussion über die chemische Konstitution des Tonoplastes beitragen. Was die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Tonoplastes anbetrifft, wurden bisher keine vergleichenden Untersuchungen vorgenommen, obgleich selbst auf Grund der bisherigen Forschungen diesbezüglich zwischen den größeren Pflanzengruppen, und vielleicht zwischen kleineren sytsematischen Einheiten Unterschiede vorhanden zu sein scheinen. Die von Fall zu Fall bemerkten Eigentümlichkeiten wurden im allgemeinen als dem Tonoplast eigen betrachtet. In anderen Fällen wurde der Tonoplast und das Plasmalemma *a priori* als gleich oder ähnlich betrachtet, und die bei einem von beiden beobachteten Eigenheiten als Merkmale der „plasmatischen Membranen" angesehen. Die Verallgemeinerung ist diesmal noch ungültiger, da die Permeabilitätsunterschiede zwischen den beiden Kategorien von Häutchen bekannt sind und letzthin auch chemische Unterschiede verzeichnet wurden.

Laut K. Höflers [35], E. Chambers und K. Höflers [7] mikrochirurgischen Forschungen oder laut B. Hubers und K. Höflers [39] sowie auch laut K. Höflers [34] Permeabilitätsforschungen, wird der Tonoplast als flüssige, dehnbare aber unelastische Lipoidhäutchen betrachtet, die eine hohe Oberflächenspannung besitzen. Diese sind mit Öltropfen, aber nicht mit Wasser mischbar. Dennoch sind sie sicherlich durchlässig, für Wasser und für die Kationen die nicht die Lipoidphase sondern nur die hydrophile Phase durchgehen. Auf Grund dieses Verhaltens des Tonoplastes, finden oder vermuten zahlreiche Verfasser auch einen proteischen Bestandteil [5], [10], [21], [52]. Es ist jedoch zu vermerken, daß das Verhältnis der Proteine geringer sein muß als in dem Plasmalemma, wel-

ches auch über eine kompliziertere physikalische Struktur verfügt, die mit dem Elektronenmikroskop nachgewiesen wurde.

Während unserer Versuche haben sich in bezug auf die Beschaffenheit des Tonoplastes bei den Zellen zwei Argumente ergeben, die uns als Experimentier-Teste dienten. Der leichte und rasche Prozeß — ohne Verletzungskomplikationen — des Durchganges der Kügelchen aus der Vakuole ins Zytoplasma durch den Tonoplast, folglich ein kategorisches Vorherrschen der Lipoiden in der Konstitution des Tonoplastes. Die zerstörende Wirkung des Digitonins auf den Tonoplast, ist ebenfalls auf dessen lipoidische oder vorzugsweise lipoidische Beschaffenheit zurückzuführen und beweist zugleich auch die Anwesenheit von Phytosterinen unter den Lipoiden des Tonoplastes.

Eine der in der Zytophysiologie viel zu wenig erörterten Fragen ist jene der eventuell physiologischen Rolle der Substanzen, welche mit den basischen Vitalfarbstoffen ausfallen.

Eine Reihe sowjetischer Forscher [1], [4], [22], [23], [24], [53], [66], die sich namentlich mit der Vitalfärbung tierischer Zellen befassten, vertreten die Ansicht, daß der körnerförmige Niederschlag der basischen Farsbstoffe eine Verteidigung gegen die toxische Wirkung der Farbstoffe darstellt. Diese Ansicht ist analog auch auf die Pflanzenzelle beziehbar, in dem Sinne, daß die Vakuolensubstanzen welche auf die Vitalfarbstoffe reagieren, antitoxisch wirken, indem sie den Farbstoff körnerförmig fällen und den Niederschlag aus dem aktiven Stoffwechsel der Zellen wegschaffen.

Unsere Forschungen bringen jedoch positive Beweise für die trophische Rolle der erörterten Substanzen. Es scheint, daß R. Buvat [6] zum ersten Mal die These verteidigt, wonach die Bindung der Lipoide an die Proteine ein Mittel zur Aufspeicherung von Substanzen mit besonderem Nährwerte, in den Vakuolen ist. Im Falle der Substanzen, welche die gefärbten Körperchen bilden, hat bekanntlich E. Pop [56] zum ersten Male auf deren trophische Rolle hingewiesen. Gelegentlich Vitalfärbungen die an verschiedenen Potamogetonazeenarten vorgenommen wurden, stellt E. Pop fest, daß sich während einer experimentellen Erschöpfung infolge der Färbung immer weniger und immer kleiner werdende Körperchen bilden, während die bereits entstandenen allmählich kleiner werden. Dieses Phänomen ist durch den inzwischen stattfindenden Verbrauch der Substanzen, die für den Körperchenaufbau nötig sind, zu erklären.

Im Falle der oberen Epidermis der Schneeglöckchen-Zwiebelschuppen kommt die trophische Rolle der durch die Vakuolen aufgespeicherten Substanzen noch deutlicher zum Vorschein.

Wir haben beobachtet, daß sich in den Epidermiszellen junger Schuppen, die gewöhnlich auch sehr stärkehaltig sind, infolge der Färbung kugelige Körperchen bilden. Bei den nur um ein Jahr älteren Schuppen, die folglich zur Ernährung der oberen Pflanzenteile beigetragen haben, war die Stärke aus den Zellen der oberen Epidermis verschwunden. In solchen mit Neutralrot behandelten Zellen entstehen keine Körperchen mehr, ein Beweis dafür, daß gleichzeitig mit der Stärke auch

die Lipoide die in den Vakuolen in als von uns vorausgesagte kolloidale Komplexe aufgespeichert sind, verbraucht wurden.

Die gleiche Schlußfolgerung betreffs der Physiologie können wir aus dem Aspekt der Färbung mit Neutralrot des veralteten Materials ziehen, in welchem Falle in den Vakuolen nichtkugelige Körperchen und Kristalle entstehen. Gemäß unserer Forschungen bestehen diese Körperchen meistens aus Sterinen. Der Prozeß bringt uns auf den Gedanken, daß ein Teil der Lipoiden, vor allem die freien fetten Säuren, während des Altwerdens des Materials nämlich in einer übermäßigen katabolischen Phase verbraucht wurden, während die Sterine mit schwerfälligeren Molekülen weiterbestehen.

Diese Feststellung enthüllt einen neuen Aspekt der viel erörterten Frage der „vollen" und „leeren" Zellsäfte Wir haben festgestellt, daß wenn die untersuchten Epidermiszellen frisch sind und die Vakuole an organischen Substanzen, hier vor allem an kolloidal dispersierten Lipoiden reichhaltig ist, diese Farbenreaktionen geben kann, so wie die Kategorie der „vollen Zellsäfte". Dieselben Zellen aber, reagieren im Sinne der „leeren" Vakuolen, wenn die erwähnten Substanzen inzwischen durch gewöhnliche metabolische Prozesse aufgebraucht wurden. Der Unterschied zwischen den beiden Zellsafttypen ist folglich nicht ein kategorischer und keinesfalls ein ausschließlich spezifischer, weil dieser von dem physiologischen Zustand bedingt werden kann, denn die gleiche anfangs „volle" Vakuole kann sich in eine „leere" umwandeln.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Durch Vitalfärbung der oberen Epidermiszellen von *Galanthus nivalis*-Zwiebeln wurde es möglich, die beiden von K. Höfler [36], [37], [38], definierten und erläuterten Zellsafttypen zu identifizieren. Die Hautzellen junger Schuppen besitzen „volle" Zellsäfte (Vakuolen), während die alten Schuppen „leere" Zellsäfte (Vakuolen) aufweisen.

2. In den „vollen" Vakuolen entstehen bei Färbung sowohl mit Neutralrot als auch mit Akridinorange, kugelige Körperchen. Unter bestimmten Bedingungen (schwache Konzentrationen des Farbstoffes oder Veralterung der untersuchten Schuppen) können bei Färbung mit Neutralrot Kristalle oder nichtkugelige Körperchen entstehen.

3. Die in den Vakuolen entstandenen kugeligen Körperchen sind weder in ihrer Lage noch in ihrem Umfang stabil. Anfangs sind sie klein und in einer sehr lebhaften Bewegung begriffen, nach einer gewissen Zeitspanne aber nehmen sie zu und fließen rasch in größere immer weniger bewegliche Kugeln zusammen; wenn sie mit dem Tonoplast in Berührung kommen drücken sie sich flach. Da ihre chemische Beschaffenheit mit der des Tonoplastes verwandt ist, so können sie infolge des Mechanismus der Fettlöslichkeit leicht durch den Tonoplast treten, da ihre Bewegungsrichtung von der Vakuole zum Zytoplasma höchstwahrscheinlich durch Mitwirkung zweier Kräfte bestimmt ist: der infolge der Vakuolenkontraktion entstandene hydrostatische Druck und der Druck

der durch die Differenz der Oberflächenspannung zwischen Vakuole und Zytoplasma hervorgerufen wird.

Schließlich lokalisieren sich die Kügelchen im Zytoplasma.

4. Die verschiedenen Kristalltypen legen sich niemals an den Tonoplast an und gelangen niemals ins Zytoplasma.

Die Kristalle können sich oft in kugelige Körperchen umwandeln, was für ihre mesophasische Aggregationsfähigkeit („flüssige Kristalle") spricht.

5. Die physikalischen Eigenschaften der kugeligen Körperchen, so wie die Kristalle der verschiedenen nichtkugeligen Körperchen, wie auch ihre mikrochemischen Gegenwirkungen führen zur Schlußfolgerung, daß die auf Vitalfarbstoffe gegenwirkende Substanzen Lipoide oder überwiegend Lipoide sind. Die Tatsache, daß vor der Vitalfärbung diese Lipoide im Vakuolensaft nicht tropfenförmig erscheinen, veranlaßt uns anzunehmen, daß sie sich in der nichtbehandelten Vakuole kolloidal dispers befinden.

6. Die mikrochemischen Reaktionen sprechen für die Anwesenheit von Lipoiden in den „vollen Vakuolen". Ihre kolloidale Dispersion ist nur im Falle einer Beteiligung von Lipoiden mit bipolären Molekülen mög. lich. Wir vermuten demnach, daß die von uns erforschten Lipoiden zum Typus der fetten Säuren gehören, nämlich Phospholipoide und Phytosterine. Demnach gehören in die Beschaffenheit der Körperchen, welche verschiedenen Typen angehören können, Komplexe aus verschiedenen Kategorien von Lipoiden gebildet, die chemisch mit dem Vitalfarbstoff kombiniert sind.

7. Unsere Forschungen lassen darauf schließen, daß die mit den basischen Farbstoffen reagierenden Vakuolensubstanzen, außer der Verteidigungsrolle gegen toxische Farbstoffe gleichzeitig auch eine trophische Rolle spielen. In der Wachstumsperiode der oberen Teile der Pflanze, werden diese Substanzen fast völlig aufgebraucht.

8. Im Lichte unserer Feststellungen über die trophische Rolle der organischen, mit basischen Farbstoffen reagierenden Vakuolensubstanzen, können wir behaupten, daß der Unterschied zwischen „vollen" und „leeren" Zellsäften nicht spezifischer Art ist; die Grenze zwischen diesen ist jedoch nicht kategorisch. Durch den Verbrauch dieser Substanzen können sich die „vollen" Vakuolentypen physiologisch in „leere" Vakuolentypen umwandeln.

Laboratorium für Pflanzenphysiologie
Universität „Babeş-Bolyai", Cluj

LITERATUR

1. АЛЕКСАНДРОВ В. Я., *О защитном значении для клетки гранулярного связывания витальных красителей.* Арх. анат. гистол. и эмбриол., 1939, **22**, *1*, 67—74.

2. — *Цитофизиологическая оценка различных методов определения жизнеспособности растительных клеток.* Тр. Бот. Инст. АН СССР, Экспериментальная Бот., сер. IV, 1955, **10**, 309—357.

3. BECKER W. A., *Vitale Zytoplasma- und Kernfärbungen.* Protoplasma, 1936, **26**, 439—487.
4. БРАУН А. Д., ФЕЛЬДМАН И. Л., *Токсичность красителей и связывание их натив-ными белками.* Докл. Акад. Наук СССР, 1949, **68**, *4*, 757—760.
5. BOGEN H. J., *Untersuchungen zu den „spezifischen Permeabilitätsreihen" Höflers. II. Harn-stoff und Glycerin.* Planta, 1938, **28**, 535—581.
6. BUVAT R., *Lipides vacuolaires dans les méristèmes de certaines racines.* Rev. de cytol. et de cytophys. végétale, 1937, **2**, 299—336.
7. CHAMBERS R, HÖFLER K., *Micrurgical studies on the tonoplast of Allium cepa.* Protoplas-ma, 1931 **12**, 338—355.
8. CHAMBERS R., КОРАС M. J., *The coalescence of living cells with oil drops. I. Arbacia eggs immersed in sea water.* Journ. Cellular and Comp. Physiol., 1937, **9**, *3*, 331—341.
9. CHANOT F. M., MANSON C. W., *Handbook of Chemical Microscopy.* New York — London, 1958.
10. CHOLNOKY B., *Ein Beitrag zur Kenntnis des Plasmalemmas.* Ber. d. deutsch. Ges., 1952, **65**, 369—373.
11. DANGEARD P. A., *La métachromatine chez les Mucorinées,* Bull. Soc. Myc. France, 1916, **32**, 42—48.
12. ДАНЖАР П., *Цитология растений и общая цитология. Cytologie végétale et cytologie générale.* Изд. Иностр. лит., Москва, 1950.
13. DEVAUX A., *Les affinités cellulaires.* Bul. Soc. Bot. France, 1930, **77**, 144—159.
14. DRAWERT H., *Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.* Flora, 1937, **132**, 91—124.
15. — *Beiträge zur Entstehung der Vakuolenkontraktion nach Vitalfärbung mit Neutralrot.* Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1938, **56**, 123—131.
16. — *Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen.* Planta, 1939, **29**, 376—391.
17. — *Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem.* Flora, 1940, **134**, 159—214.
18. — *Beiträge zur Vitalfärbung pflanzlicher Zellen.* Protoplasma, 1951, **40**, 85—106.
19. — *Die Aufnahme der Farbstoffe. Vitalfärbung, in Ruhlands Handbuch der Pflanzen-physiologie. Allgemeine Physiologie der Pflanzenzelle.* Berlin-Göttingen-Heidelberg, Bd. II, 1956, **2**, 252—289.
20. DRAWERT H., STRUGGER S., *Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen.* Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1938, **56**, 43—54.
21. EICHBERGER R., *Über die „Lebensdauer" isolierter Tonoplasten.* Protoplasma, 1934, **21**, 606—632.
22. ФЕЛЬДМАН Н. Л., *Сравнительная токсичность для клетки диффузных и гранулярных красителей.* Докл. АН СССР, 1948, **59**, *5*, 961—964.
23. — *К вопросу о диффузном окрашивании клетки некоторыми основными витальными красителями.* Докл. АН СССР, 1948, **59**, *6*, 1173—1174.
24. — *Роль коацервации в отложении гранул основных витальных красите-лей клетки.* Докл. АН СССР, 1948, **62**, *6*, 817—820.
25. FLASCH A., *Die Festigkeit der Bindung einiger basischer Farbstoffe in vitalgefärbten Pflan-zenzellen.* Protoplasma, 1956, **45**, 593—614.
26. FREY-WYSSLING A., *Submicroscopic morphology of protoplasm.* Amsterdam-Houston-London-New York, 1953.
27. GICKLHORN J., *Kristalline Farbstoffspeicherung im Protoplasma und Zellsaft pflanzlicher Zellen nach vitaler Färbung.* Protoplasma, 1929, **7**, 341—352.
28. ГИЗЕ А. К., *Физиология клетки (Cell Physiology),* Изд. Иностр. Лит. Москва, 1959.
29. GUILLIERMOND A., *Recherches sur la structure de quelques Champignons inférieurs.* C. R. Acad. Sci., 1901, 21 Jan.
30. — *Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes de levures,* Lyon, 1902.
31. GUILLIERMOND A., MANGENOT C., PLANTEFOL L., *Traité de cytologie végétale,* Paris, 1933, S. 285—296.
32. HARTEL O., *Gerbstoffe als Ursache „voller" Zellsäfte.* Protoplasma, 1951, **40**, 338—347.
33. — *Fluoreszenzmikroskopische und mikrochemische Beobachtungen an Cirsium arvense.* Mikroskopie, 1953, **8**, 41.

34. HÖFLER K., *Plasmolyseverlauf und Wasserpermeabilität.* Protoplasma, 1931, **12**, 564, 579.
35. — *Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen.* Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1931, **49**, 79—95.
36. — *Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung.* Mikroskopie, 1947, **2**, 13—29.
37. — *Fluoreszenzmikroskopie und Zellphysiologie.* Biol. Gen., 1949, **19**, 90—113.
38. — *Fluorochromierungsstudien an Pflanzenzellen. Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie*, Sonderband *Mikroskopie*, Wien, 1949.
39. HUBER B., HÖFLER K., *Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas.* Jahrb. f. wiss. Bot., 1930, **72**, 351—511.
40. KINZEL H., *Theoretische Betrachtungen zur Ionenspeicherung basischer Vitalfarbstoffe in leeren Zellsäften.* Protoplasma, 1954, **44**, 52—72.
41. — *Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe. (Eine Studie zum cytochemischen Aspekt der Vitalfärbung.)* Protoplasma, 1958, **50**, 1.
42. KÜSTER E., *Die Pflanzenzelle.* III. Ausg., Jena, 1956.
43. LEPESCHKIN W. W., *Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Plasmamembran.* Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1911, **29**, 247—261.
44. — *Über die Einwirkung anästhesierender Stoffe auf die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran.* Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1911, **29**, 349—355.
45. LOEW O., *Notiz über eine überraschende Kristallbildung in toten Zellen.* Flora, 1916 1917, **109**, 67—68.
46. MANGENOT G., *Sur la signification des cristaux rouges apparaissant sous l'influence du bleu de crésyl, dans les cellules de certaines algues.* C. R. Acad. Sci., 1928, **187**, 93—95.
47. MIRANDE M., *Sur la nature protéolipotdique des stérinoplastes du Lis blanc.* C. R. Acad. Sci., 1923, **176**, 596—598.
48. — *Sur les états de la liliostérine au cours de la vie des écailles bulbaires du Lis blanc.* C. R. Acad. Sci., 1924, **179**, 638—641.
49. — *Sur les propriétés optiques des stérinoplastes et de la phytostérine des bulbes du Lis blanc.* C. R. Acad. Sci., 1924, **179**, 956—989.
50. — *Sur la phytostérine des écailles des bulbes dans les espèces du genre Lilium.* C. R. Acad. Sci., 1924, **179**, 1768—1770.
51. МОЛДЗЕЕВСКИЙ А. Б., *Молекулярная физика.* Москва-Ленинград, 1941.
52. MOTHES K., *Der Tonoplast von Sphaeroplea.* Planta, 1934, **21**, 486—510.
53. НАСОНОВ Д. Н. и АЛЕКСАНДРОВ В. Я., *Реакция живого вещества на внешние воздействия.* Москва, 1940.
54. PFEFFER W., *Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen.* Untersuch. d. bot. Inst. Tübingen, 1886, **2**, 179—332.
55. PLANTEFOL L., *Sur une activité physiologique de quelques pollens. Cristaux de rouge neutre et vacoume du grain de pollen*, Ann. sci. nat., bot. ser. X, 1933, **15**, 261—301.
56. POP E., *Coloraţii vitale la Potamogetonacee. Omagiu lui Traian Săvulescu.* Ed. Acad. R.P.R., Bukarest, 1959, S. 617—631.
57. PRÁT S., *Kristalline Farbstoffspeicherung bei Vitalfärbung.* Protoplasma, 1931, **12**, 339—401.
58. PROWAZEK S., *Zur Regeneration der Algen.* Biol. Zbl., 1907, **27**, 737—747.
59. — *Studien zur Biologie der Zellen. II. Zelltod und Strukturspannung.* Biol. Zbl., 1909, **29**, 291—296.
60. RUHLAND W., *Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut.* Jahrb. f. wiss. Bot., 1912, **51**, 376—431.
61. STEFFEN K., *Einschlüsse*, in *Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie.* Bd. I, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955, S. 405.
62. STERLING C., *Lipoidal crystals in onion.* Protoplasma, 1959, **51**, 299—306.
63. STEWART F. C., *Liquid crystalls of lipid in normal and atheromatous tissue.* Nature, 1959, **183**, *4665*, 873—875.
64. ШТРУГГЕР З., *Практикум по физиологии растительных клеток и тканей.* Изд. Иностр. Лит., Москва, 1953.

65. THALER L., *Studien an „plastidenähnlichen Gebilden"* (*Elaioplasten und Sterinoplasten*) Protoplasma, 1956, **46**, 743—754.

66. ТРОШИН А. С., *Проблема клеточной проницаемости.* Изд. Ак. Наук СССР, Москва-Ленинград, 1951.

67. ВОЛЬКЕНШТЕЙН М. В., *Молекулярная оптика.* Изд. Акад. Наук СССР, Москва-Ленинград, 1951.

68. WEBER F., *Vakuolen-Kontraktion vital gefärbter Elodea-Zellen.* Protoplasma, 1930, **9**, 106—119.

69. — *Vakuolenkontraktion und Vitalfärbung in Blütenzellen.* Protoplasma, 1930, **11**, 312—316.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПОГЛОЩЕНИЕ ФОСФОРА КУКУРУЗОЙ, ФАСОЛЬЮ И ГОРОХОМ, ОПРЕДЕЛЕННОЕ ПРИ ПОМОЩИ РАДИОАКТИВНОГО ФОСФОРА P^{32}

Н. ЗАМФИРЕСКУ, Г. БЫЛТЯНУ и С. УРТИЛЭ

Как известно, температура является фактором, влияющим на все физиологические явления. Несмотря на все свое значение, вопрос о влиянии температуры на поглощение питательных веществ изучался еще очень мало.

Изучение роли температуры при поглощении минеральной пищи интересно не только с точки зрения физиологии растений, но и с точки зрения растениеводства. Действительно, если известна оптимальная температура для поглощения минеральных веществ каждым культурным растением, то представляется возможным направить агротехнику таким образом, чтобы обхватить все то, что может дать такая температура. Так как получение оптимальной температуры зависит от обработки почвы или других средств, то можно при этом ожидать усиления поглощения пищи растениями, повышения эффективности удобрения, а следовательно, и увеличения урожая.

Исходя из этих соображений, еще в 1936—1937 гг. одним из нас [7], [8] были опубликованы результаты исследования о влиянии температуры на поглощение азота, фосфора, калия и кальция кукурузой. Пользуясь собственным методом мы установили интенсивность поглощения питательных элементов при различных температурах в пределах между 5 и 49° и установили оптимальную температуру для каждого из них.

Позднее, П. В. Дадыкин [2], [3], [4] занимается вопросом эффективности удобрений в холодных и теплых почвах, путем выращивания растений овса и ячменя в питательных растворах при температурах от 1 —3° и 15—25°. В этих работах не исследовались, однако, различные питательные элементы в отдельности, не применялась надлежащая градация температуры и не устанавливалась оптимальная температура поглощения.

Ввиду того, что такие данные, касающиеся различных культурных растений, являются чрезвычайно важными как в научном, так и в практическом отношении, мы решили продолжить наши прежние исследования, используя на этот раз для изучения явления поглощения радиоактивные изотопы.

Вследствие простоты и точности разработанного нами метода, мы смогли расширить наши исследования на целый ряд культурных растений.

Изложим пока лишь полученные нами результаты, касающиеся поглощения фосфора кукурузой, фасолью и горохом.

МЕТОД РАБОТЫ

Для поддержания температуры питательного раствора, на желаемом уровне мы пользуемся сосудами Дьюара; в пробках этих сосудов, после предварительного пропитывания их парафином, проделывается отверстие такого размера, чтобы через него можно было ввести внутрь сосуда корень исследуемого растения.

В сосуд наливается питательный раствор следующего химического состава: 0,24 г азотнокислого аммония, 0,16 г сернокислого калия, 0,04 г монокальция фосфата и 25—30 микрокюри P^{32} на 1 000 $см^3$ дистиллированной воды.

В питательный раствор вводятся корни исследуемых нами растений. Температура раствора поддерживается на требуемом уровне в течение всей продолжительности опыта, причем отклонения от него могут быть лишь ничтожной величины. После нескольких часов, надземная часть растения срезается, сжигается и, с помощью счетчика Гейгера-Мюллера, определяется количество радиоактивного фосфора в 10 мг золы.

Опыты проводились при нормальной комнатной температуре, а температура питательного раствора поддерживалась на определенном уровне между 5 и 50°.

Опыты имели три повторности.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

I. *Опыты с кукурузой*

Растения кукурузы сорта ИКАР-54 выращивались в древесных опилках до фазы 2 листьев, после чего они извлекались и из них отбиралось нужное число одинаковых по виду растений. Затем этим растениям давали поглощать питательный раствор, имеющий требуемую температуру. Через некоторое время определялось количество радиоактивного фосфора, проникшего в надземные части растения.

Опыт № 1. — В этом опыте продолжительность выдержки равнялась 10 часам при колебании температуры от 5 до 35°.

Таблица № 1

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное кукурузой в течение 10 часов при температуре от 5—35°

Температуры раствора, в градусах	Радиоактивность, всего имп/мин на 10 мг золы	Интенсивность в минуту через один час поглощения
5	110	11
10	130	13
15	142	14
20	158	15
25	176	17
30	220	22
35	240	24

Данные таблицы 1 показывают, что через 10 часов наибольшее количество радиоактивного фосфора P^{32} было поглощено при температуре в 35°, наиболее высокой из применявшихся в этом опыте. Из полученных данных следует, что интенсивность поглощения фосфора при 35° превышает больше чем в два раза интенсивность его поглощения при 5°.

Опыт № 2. — Продолжительность равнялась 6 часам при колебании температуры от 5 до 50°. Результаты показаны в таблице № 2.

Таблица № 2

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное кукурузой в течение 6 часов при температурах от 5 до 50°

Температура раствора, в градусах	Радиоактивность, всего имп/мин на 10 мг золы	Интенсивность в минуту через один час поглощения
5	32	5
10	72	12
15	110	18
20	180	30
25	230	38
30	306	51
35	443	73
39	467	77
45	432	72
50	400	66

Отсюда следует, что наибольшее количество радиоактивного фосфора P^{32} было поглощено кукурузой при температуре в 39°. Начиная с этой температуры, интенсивность поглощения снижается.

Опыт № 3. — В этом опыте мы решили выяснить, как протекает поглощение фосфора при одинаковой температуре, но при различной

продолжительности опыта. Мы пользовались лишь двумя температурами, близкими к комнатной, а именно в 20 и 32°, чтобы иметь возможность поддерживать их более продолжительное время.

Результаты показаны в таблицах № 3 и № 4.

Таблица № 3

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное при температуре в 20° через различное число часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность, всего в имп/мин на 10 мг золы	Интенсивность в минуту после одного часа поглощения	Разница между двумя определениями
7	238	34	—
19	938	49	700
23	2 560	111	1 622
27	2 810	104	250
31	3 238	110	428
43	3 808	88	570
47	4 390	93	582
51	4 562	89	172

Таблица № 4

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное при температуре в 32° через различное число часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность всего имп/мин на 10 мг золы	Интенсивность в минуту после одного часа поглощения	Разница между двумя определениями
7	440	62	—
19	4 434	233	3 994
23	7 712	335	3 278
27	8 306	307	594
31	10 738	346	2 432
43	11 552	268	814
47	12 532	266	980
51	13 142	257	610

Данные этих таблиц подтверждают тот факт, что при температуре в 32° поглощение кукурузой фосфора происходит с гораздо большей интенсивностью, чем при 20°С, причем такое поглощение сохраняется даже и тогда, когда продолжительность опыта доходит до 51 часа.

Сравнив данные этих двух таблиц можно видеть, что в течение этого промежутка времени в надземных частях растений накопилось в три раза больше фосфора, чем при температуре в 20°. Этот факт доказывает огромное влияние температуры на поглощение фосфора.

Если подсчитать количество фосфора, накопленного в надземных частях при этих двух различных температурах и, в особенности, поглощенного в течение одного часа, то заметна довольно значитель-

ная разница между результатами при температуре в 20° и в 32°. Эти колебания, повидимому, имеют непосредственную связь с колебаниями температуры и света в течение дня и ночи, но возможно, что при этом сказывается влияние и других факторов. Эту сторону вопроса остается выяснить в дальнейших исследованиях.

Во всяком случае полученные данные показывают, что на поглощение фосфора влияют не только факторы, заключающиеся в питательной среде, но и другие факторы.

Заметно, что границы, между которыми происходит колебание интенсивности поглощения при температуре в 32°. более отдалены чем при 20°.

Опыт № 4. — В этом опыте мы имели целью установить протекает ли поглощение с одинаковой интенсивностью в течение определенного промежутка времени и, в частности, установить остается ли его интенсивность неизменной в течение дня.

С этой целью, определения производились через каждый час в течение 8 часов, начиная от начала опыта, при температуре питательной среды в 35°. Результаты опыта показаны в таблице № 5.

Таблица № 5

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное через каждый час, в течение 8 часов (при температуре в 35°

Час взятия пробы	Радиоактивность, всего имп/мин на 10 мг золы	Разница между часами
11	Начало опыта	—
12	72	72
13	115	43
14	160	45
15	210	50
16	246	36
17	262	16
18	332	70
19	420	88

Данные, приведенные в таблице № 5, показывают, что поглощение фосфора происходит с неодинаковой интенсивностью, даже если это продолжается только в течение дня. Поглощение более интенсивно вначале в полуденные часы (между 11 и 12), потом снижается, а к вечеру (18—19 часов) снова возрастает.

Изложенные данные соответствуют результатам, полученным в предыдущих опытах. Они доказывают, что интенсивность поглощения не остается на одном и том же уровне в течение всей продолжительности опыта и что, кроме влияния питательной среды, возможно влияние также и других факторов.

Опыт № 5. — Продолжительность этого опыта была увеличена до 103 часов. Полученные данные показаны в таблице № 6.

Таблица № 6

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенного через каждые 12 часов в течение 103 часов (при температуре в 20°)

Часы взятия пробы	Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность, всего имп/мин на 10 мг золы	Разница между двумя определениями	Интенсивность в минуту после одного часа поглощения
20	7	338	—	48
8	19	1 388	1 050	87
20	31	3 388	2 000	166
8	43	5 744	2 356	196
20	55	10 346	4 602	383
8	67	13 432	3 086	256
20	79	16 634	3 202	266
8	91	24 726	8 092	674
20	103	38 820	14 104	1 175

Из этого опыта следует, что темпы поглощения фосфора неодинаковы. В течение дня количество поглощенного фосфора вообще больше, чем ночью, что подтверждают результаты опыта № 3.

Опыт № 6. — В этом опыте мы изучали поглощение фосфора более взрослыми растениями кукурузы, в фазе 3—4 хорошо развитых листьев. Продолжительность опыта длилась 31 час. Полученные данные показаны в таблице № 7.

Таблица № 7

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное растениями кукурузы в фазе 3—4 листьев в течение 7—31 часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность в имп/мин на 10 мг золы							
	5°		20°		32°		39°	
	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения
7	46	6	94	13	146	20	148	24
19	54	11	126	2	202	4	230	6
23	88	8	—	—	236	8	264	8
27	132	11	—	—	282	11	306	10
31	146	3	208	6	354	18	502	49

Из результатов этого опыта следует, что растения кукурузы в более поздней фазе вегетации, при температуре питательной среды в 39° поглощают наибольшие количества фосфора; это означает, что оптимальная температура сохраняется и в более поздних фазах вегетации.

Выводы, которые вытекают из опытов с радиоактивным фосфором P^{32}, поглощенным кукурузой, являются следующими.

Температура оказывает сильное влияние на интенсивность поглощения фосфора. Интенсивность этого явления подымается от температуры в 5°, достигает максимума при температуре в 39—40°, после чего снова снижается. По сравнению с пониженными температурами, поглощение фосфора при оптимальных температурах происходит в несколько раз интенсивнее.

Достигнутые нами результаты опытов вполне соответствуют результатам, полученным нами в опытах, опубликованных в 1937 году, когда применялся значительно более сложный метод.

Интенсивность поглощения при одной и той же температуре не остается постоянной при большей продолжительности опыта и колеблется между днем и ночью и даже в течение дня.

Границы, в которых происходят эти колебания более отдалены при повышенных температурах, по сравнению с пониженными. Эти изменения показывают, что на поглощение фосфора влияет не только факторы питательной среды, но и другие факторы, существующие вне этой среды.

II. *Опыты с фасолью*

Опыт № 7. — Опыты проводились на растениях, находящихся в фазе 3 развитых листьев. Колебание температуры от 5 до 45° при продолжительности опыта от 18 до 42 часов. Полученные данные показаны в таблице № 8, из которых вытекает следующее:

Интенсивность поглощения, определяемая по числу импульсов в минуту после одного часа поглощения, возрастает при температуре от 5° до 39°, независимо от продолжительности опыта. При температуре свыше 39° (соответственно при 45°) в течение первых 22 часов опыта наблюдается резкое и очень сильное поглощение, после чего интенсивность быстро снижается так, что через 42 часа становится ниже, чем при температуре в 5°.

Оптимальной температурой поглощения у фасоли является температура в 39°.

Если рассматривать полученные данные в промежутках времени, то во всех случаях наблюдается тот факт, что в первые часы опыта поглощение происходит с постепенно ослабевающей интенсивностью. Это явление можно объяснить или снижением с течением времени содержания радиоактивного фосфора в растворе, или же, вернее всего, фосфорным голоданием, проявляющимся вначале сильнее, чем позже.

Можно заметить также, что интенсивность поглощения, выраженная количеством импульсов в минуту, менее резко варьирует при пониженных температурах (в 5—10°), чем при повышенных (в 32—45°).

Таблица № 8

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное растениями фасоли в течение 18—42 часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность в имп/мин на 10 мг золы											
	5°		10°		20°		32°		39°		45°	
	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения
18	1 444	80	1 780	98	2 030	112	2 876	169	3 308	183	4 848	268
22	1 528	69	2 131	96	2 530	115	3 536	160	4 583	208	6 935	325
30	1 785	59	2 476	82	2 760	92	4 152	130	5 109	170	1 985	66
42	3 000	70	3 600	85	3 740	89	3 268	101	6 094	145	3 832	51

Опыт № 8. — Этот опыт проводился при одной и той же температуре в 20°, но продолжительность его была увеличена до 90 часов, чтобы установить степень колебания интенсивности поглощения в зависимости от продолжительности времени.

Полученные данные показаны в таблице № 9.

Таблица № 9

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное растениями фасоли при температуре в 20° в течение 18—90 часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность, всего имп/мин на 10 мг золы	Интенсивность в минуту после одного часа поглощения
18	1 780	98
30	2 900	96
42	3 600	85
54	4 849	89
66	5 294	80
78	7 413	95
90	9 790	108

Данные этой таблицы показывают, что при температуре в 20° поглощение фосфора, начавшееся с какой-то определенной интенсивностью, слегка снижается в течение первых 66 часов, после чего вновь возрастает и при продолжительности в 90 часов превосходит исходную интенсивность. Хотя интенсивность поглощения фосфора и не остается постоянной, все же ее колебания не больше колебаний, наблюдавшихся у кукурузы.

III. *Опыты с горохом*

Опыт № 9. — Подопытные растения гороха были в фазе 3 развитых листьев, при колебании температуры от 5 до 40°. Полученные данные показаны в таблице № 10.

Таблица № 10

Количество радиоактивного фосфора P^{32}, поглощенное растениями гороха в течение 4—38 часов

Продолжительность поглощения в часах	Радиоактивность в имп/мин на 10 мг золы									
	5°		10°		20°		30°		40°	
	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения	всего	в минуту после одного часа поглощения
4	106	26	94	23	86	21	280	70	556	139
16	384	24	512	32	770	48	1 415	88	850	54
19	450	23	620	32	1 020	53	1 450	82	950	51
38	888	23	1 324	34	—	—	2 496	65	1 856	48

Данные таблицы № 10 показывают, что в первые 4 часа интенсивность поглощения фосфора варьирует между 21 и 26 импульсами в минуту после одного часа поглощения, при температуре от 5° до 20°. При 30° имеем 70 импульсов, а при 40°—139 импульсов.

При большей продолжительности, интенсивность поглощения является максимальной при 30°, что показывает, что эта температура является оптимальной для поглощения фосфора.

При рассмотрении колебания интенсивности поглощения фосфора во времени отдельно при каждой температуре увидим, что при температуре в 5° количество импульсов в минуту после одного часа поглощения слабо варьирует от 23 до 26. По мере возрастания температуры амплитуда колебания увеличивается (при 20° — от 21 до 53; при 30° — от 65 до 88, а при 40° — от 48 до 139); однако, эти колебания значительно меньше, чем у кукурузы. Это явление показывает, что факторы, находящиеся вне питательной среды, у гороха имеют меньшее влияние на поглощение фосфора, чем у кукурузы.

ВЫВОДЫ

Из изложенных выше опытов можно сделать следующие основные выводы.

Применение радиоактивных изотопов, введенных в ничтожных количествах в полные питательные растворы, позволяет проследить с достаточной точностью и легкостью влияние температуры на интенсивность поглощения питательных веществ.

Полученные таким путем результаты, касающиеся поглощения фосфора, полностью подтверждают результаты, к которым мы пришли много лет тому назад другим методом.

Температура минеральной питательной среды играет чрезвычайно важную роль в снабжении растений пищей. Существует оптимальная температура, при которой происходит поглощение различных питательных элементов. Так, поглощение фосфора кукурузой и фасолью наиболее интенсивно происходит при 39°, а горохом — при 30°. При этой температуре интенсивность поглощения фосфора в несколько раз выше, чем при пониженных температурах (5—10°). При изучении интенсивности во времени установлено, что она имеет колебания как в течение дня, так и между днем и ночью, причем эти колебания особенно значительны у кукурузы. У бобовых — фасоли и гороха — эти колебания меньше. Колебания имеют большую амплитуду при повышенных температурах и меньшую при пониженных.

Фасоль при температуре в 45° и горох при температуре в 40° сначала поглощают фосфор с очень большой интенсивностью, но после известного числа часов, их интенсивность резко и сильно снижается.

Изучение влияния температуры на интенсивность поглощения питательных веществ и, в особенности, установление оптимальной температуры поглощения для каждого культурного растения и для каждого отдельного питательного элемента, имеет бесспорно практическое значение.

Действительно, агротехнические мероприятия должны быть направлены к созданию такой оптимальной температуры в почве, которая дала бы возможность растению поглощать различные минеральные вещества с максимальной интенсивностью.

Что касается удобрений, то они только тогда оказывают бо́льшее влияние на урожай, когда при применении вспашки, обработки культиватором, мотыжении и других методов, удается установить в почве температуру, способствующую наилучшему поглощению внесенных удобрений с наибольшей интенсивностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davidescu David, *Agrochimia*, Ed. agro-silvică, Bucureşti, 1956.
2. Далькин П. В., *О водном режиме и питании на холодных почвах*, ДАН СССР, 1950, **LXX**, *6*.
3. — *О влиянии температур в зоне корней на развитие колоса у ячменя и овса*. ДАН СССР, 1950, **LXXII**, *6*.
4. — *Temperatura solului unul din factorii care determină eficacitatea îngrăşămintelor*. Anal. rom-sov., seria agricultură, 1950, *11*.
5. Maksimov A. N., *Fiziologia plantelor*, Ed. de stat, Bucureşti, 1955.
6. Нельсон Л. Б., *Минеральное питание кукурузы и его зависимость от развития растений и агротехники*, Сельское хозяйство за рубежом, 1958, *1*.
7. Zamfirescu N., *Influenţa temperaturii asupra absorbţiei substanţelor nutritive. 1. Absorbţia azotului*, Bul. Fac. agr. Univ. Iaşi, 1936.
8. *Influenţa temperaturii asupra absorbţiunii substanţelor nutritive. Absorbţiunea fosforului, potasiului şi calciului*, Bul. Fac. agr. Univ. Iaşi, 1937.

CONTRIBUTIONS TO THE BIOLOGY OF THE FUNGUS *SOROSPORIUM HOLCI SORGHI* (RIV.) MOESZ f. *ZEAE* (PASS.) SĂVUL.

BY

E. RĂDULESCU, E. PERSICĂ and I. POPESCU

During the period 1954—1959, the authors of this paper carried out investigations concerning the biology and the control of the fungus *Sorosporium holci sorghi* (Riv.) Moesz f. *zeae* (Pass.) Săvul. (= *S. reilianum*) which causes the smut of maize tassel and ears. On the basis of the experimental results obtained, in the present paper we shall point out the importance of certain external and internal factors, for the infection of maize by this fungus. These factors influence the germination of the chlamydospores as well as the penetration of the mycelium and its development within the plant.

Temperature. In order to demonstrate the role of temperature in infection with this fungus, we have begun by investigating the relationship between the germination of the chlamydospores and various temperatures. Potter [5], who investigated these relationships in the *sorghi* form of the fungus, found germination of the chlamydospores to occur at 16—32°C, the optimum temperature being of 27—30°C.

Our laboratory experiments performed in the years 1956 and 1958 showed germination as related to temperature in the *zeae* form of the fungus not to differ very much from that of the form on sorghum [7]. Chlamydospore germination was investigated in Van Tieghem's cells at 12 different temperatures ranging from 5 to 40°C. An extract of maize seeds at pH 6.8—7 was used as germination medium. The germinated spores were counted under the microscope after 2, 5, 8 and 10 days following the beginning of the experiment. The experiments were repeated five times, the counts being carried out in a great number of microscopic fields for each variant. The results obtained in 1958 were similar with those recorded in 1956.

The percentage variations of germinated spores after 10 days (in the year 1958) at various temperatures are shown in the diagram of figures 1 (bottom). The chlamydospores of the fungus may be seen to germinate between 11 and 34°C, the optimum temperature being around 20°C. It should be noticed that in our experiments the minimum temperature of chlamydospore germination was lower than that recorded by Potter [5] in the case of chlamydospores of the *sorghi* form.

In accordance with Potter's results, temperature was found to play an important part in the chlamydospore germination of the fungus. The strong influence exerted by temperature on chlamydospore germination is likewise expressed in the results of experiments concerning the variations of *Sorosporium* infections as related to the soil temperature during the period of emergence of maize. As a rule, the results obtained in infections with the *sorghi* form by Christensen [1] and with the *zeae* form by Kispatić and Lušin [3] are in accordance with those obtained in experiments on chlamydospore germination as related to temperature [8], [9].

The results obtained in our infection experiments performed in 1955 and 1957 are similar to those recorded in the above described experiments on germination. In these experiments the maize was planted in pots containing soil infected with the chlamydospores of the fungus (10 g spores per 1 kg soil), at a depth of 6 cm. During germination of the kernels and up to emergence, the humidity of the soil was maintained at a comparatively low level. Ten temperature variants ranging from 5 to 36°C were tested, the pots being kept in the incubator at the respective temperature from planting till emergence. After emergence, the plants were either kept in the hothouse all the time (in 1955) or else, after a few days of adaptation to external conditions, they were transplanted in the field at 70 × 70 cm distance together with the soil contained in the pots (in 1957). The experiments were repeated three times.

The results obtained in the experiments of 1957 are shown in the diagram of figure 1 (top). As may be seen from this figure, the highest degree of infection was obtained at 28°C, at the same temperature at which the highest percentage rate of spore germination had been recorded. The rate of infection progressively diminished towards the maximum and minimum temperatures at which infection still occurs, which in general coincide with those of spore germination. It shoud be noticed that infections could be obtained even at 10–12°C.

Soil humidity. Soil moisture is known to exert a considerable influence on the infection of various Ustilaginaceae with germinal infection. According to Christensen [1], the *sorghi* form of the fungus *Sorosporium holci sorghi* causes infection in conditions of lower humidity.

Our experiments (1955 and 1957) concerning the influence of this factor on infections caused by *Sorosporium holci sorghi* f. *zeae* were carried out in pots containing soil which had been uniformely mixed with chlamydospores (10 g spores per 1 kg soil). Four variants of soil humidity were tested, moisture varying within narrow limits around 25, 40, 60 and 80 per cent respectively of the maximum water absorption capacity. The

pots were maintained at a constant temperature in the incubator (around 20°C). When the plants had 3—4 leaves, they were removed to the open for adaptation and then transplanted in the experimental field together with the soil contained in the pots.

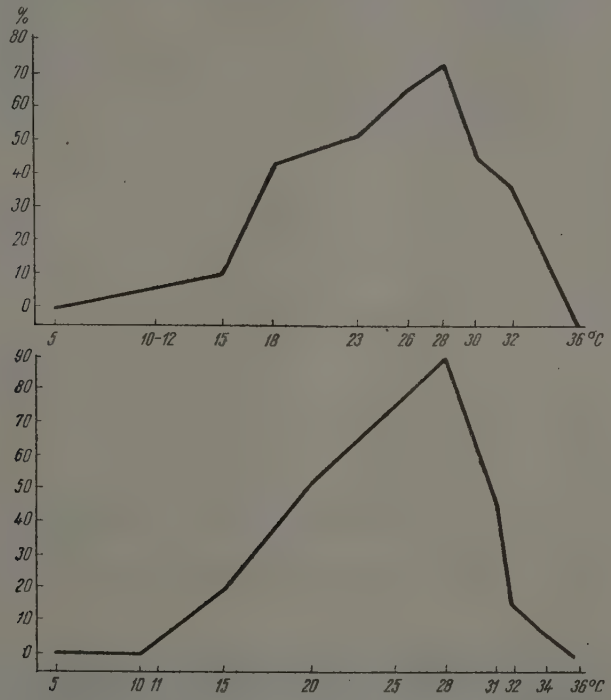


Fig. 1. — Percentage variations of germinated spores (bottom) and of infected plants (top) in relation to temperature.

From the results represented in the diagram of figure 2, soil humidity may be seen to play an important part in infections due to this fungus. The strongest attack occurred at the lowest degree of soil moisture and the rate of diseased plants decreased with the increase of humidity.

Light. Several investigators [2], [6] have found that wheat seedlings grown in the dark are more susceptible to infection with *Tilletia tritici* than those exposed to light. This was accounted for by the fact that the tissues of plants grown in the dark are more readily invaded by the mycelium of the fungus.

In experiments performed in 1958, we tried to find out whether the conditions of light exposure during the growth of maize seedlings

exert any influence on the susceptibility of the latter to *Sorosporium* infection.

To this end, one half of a large number of maize seedlings were grown in the dark while the other half was exposed to light, temperature conditions being the same in both cases (21—22°C). Plantation of the seedlings in the experimental field was carried out at four successive periods, each time when one quarter of the number of seedlings had reached lengths of 5, 10, 15 and 20 mm respectively. The seedlings were planted into

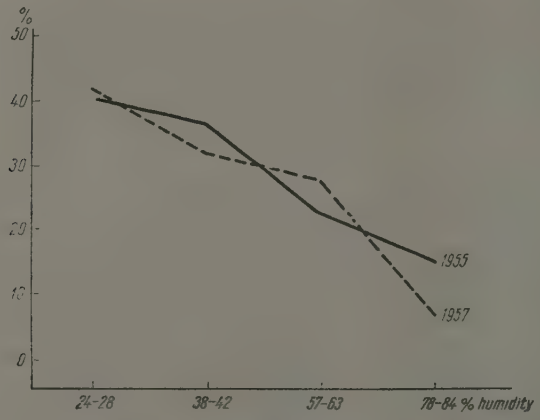


Fig. 2. — Variation of *Sorosporium* infections in relation to soil humidity.

holes made with the dibble and covered with spore-containing soil over their whole height. Up to the level of the ground was added uninfected soil.

The results are given in the diagram of figure 3. *Sorosporium* infection was obviously more intense in plants maintained in the dark before infection. Is is likewise apparent that the infection was the more intense the earlier the phase at which the seedlings had been transplanted in the field.

We consider the hypothesis adopted by other investigators to be plausible in the case of *Sorosporium* infections as well, namely that the tissues of plants grown in the dark are more readily penetrated by the mycelium of the fungus. It might be assumed that darkness also promotes chlamydospore germination. In our experiments this supposition is out of the question, since the spores were not put in contact with the seedlings before the plantation of the latter.

Moreover, in another (six times repeated) experiment, we recorded but insignificant differences between the percentage rates of spore germi-

nation in the light and in the dark. In this experiment the percentage rates of germinated spores were:

After	In the light	In the dark
4 days	51.9	53.4
6 days	60.8	61.6
10 days	78.6	78.9

Hydrogen ion concentration (pH). In experiments on chlamydospore germination in Ustilaginales, various authors have found the pH of the medium to exert an obvious influence on their germination. Thus,

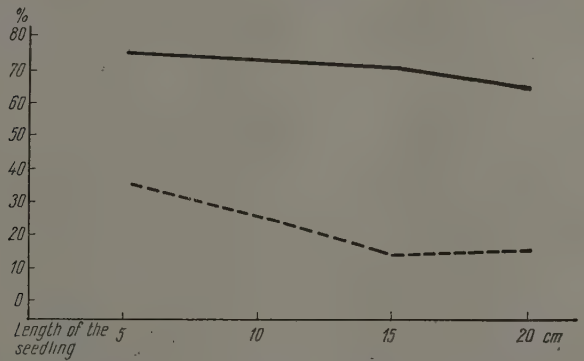


Fig. 3. — Variation of *Sorosporium* infections in seedlings grown in the dark (.....) or exposed to light (————).

for instance, some investigators have found that the chlamydospores of *Tilletia tritici* will not germinate at pH values below 5 [6] or under 4 [8].

The influence exerted on the germination of *Sorosporium* chlamydospores by different hydrogen ion concentrations was investigated by us in laboratory experiments performed in 1957 and 1958. In these experiments, corn meal extract acidified by means of citric acid or alkalinized by means of sodium hydroxide to yield 6 different pH values was used as a germination medium. Chlamydospore germination was determined in Van Tieghem's cells kept in the incubator at a temperature of 26—28°C. The experiments were six times repeated, a large number of spores being each time observed under the microscope.

The results obtained are shown in the diagram of figure 4 (bottom). *Sorosporium* spores may be seen to germinate over a fairly wide range of pH values. The highest percentage rate of spore germination was recorded at pH values of the medium ranging from 7 to 7.5. The percentage rates of germinated spores decrease progressively as the acidity or the alkalinity increase.

The results of infection experiments carried out in the years 1955 and 1957 showed the pH of the soil to exert an obvious influence in the same direction, on the infection of maize with this fungus. In these experiments, artificially acidified or alkalinized soil forming a series of

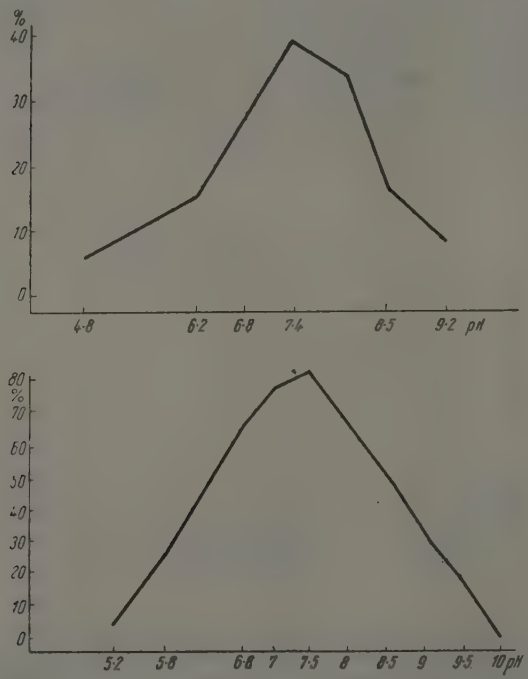


Fig. 4. — Percentage variations of germinated spores (bottom) and of infected plants (top) in relation to the pH of the solution or of the soil.

six different concentrations was used. A few days before planting the earth was uniformly mixed with *Sorosporium* spores. The experiments were performed in Mitscherlich vessels, each variant including 90 plants. The pH was determined before planting and a second time at the moment of emergence. Moisture of the earth was maintained between 40 and 50 per cent of its maximum water capacity. The vessels were kept in the hothouse at 22—26°C.

The diagram in figure 4 (top) shows the percentage variations of infected plants in relation to the pH of the soil. On the whole, the results of infection experiments are similar to those of spore germination. The

highest percentage rate of infected plants was obtained in the variant in which the soil pH equalled 7.2. The attack decreased alongside the increase of acidity or alkalinity.

Mineral fertilizers. The use of mineral fertilizers affords an important means of increasing maize yield. Hence, the extent to which the chemical substances used as fertilizers may influence chlamydospore germination in *Sorosporium* and consequently infection due to this fungus, is a matter of definite practical interest.

In order to investigate this problem laboratory experiments were carried out in 1956. *Sorosporium* chlamydospores were left to germinate in dilute solutions of ammonium nitrate (NH_4NO_3), potassium salt (KCl), and superphosphate (P_2O_5). Each of the fertilizers was used in two concentrations, i.e. ammonium nitrate and potassium salt in concentrations of 0.1 and 0.15 per cent, and superphosphate in concentrations of 0.1 and 0.2 per cent. The germination of chlamydospores in these solutions was investigated according to the same methods as in the preceding experiments.

The results as regards germination are featured in figure 5 (bottom). They show that the common fertilizers in very dilute solutions may exert an inhibiting action on spore germination and that the intensity of this action varies according to the fertilizer used. Ammonium nitrate exhibited the strongest inhibiting power, decreasing the ability of the spores to germinate by more than 85 per cent. Potassium salt follows in decreasing order, with a figure of over 70 per cent, while superphosphate displays the weakest action (about 38 per cent).

It is interesting to compare the direct action exerted by these three mineral fertilizers on spore germination with their effects as regards *Sorosporium* infection. To this end, we shall make use of the results of field experiments performed over a period of three years (1955—1957). In these experiments, the separate or associated action of ammonium nitrate (150 kg per ha), potassium chloride (120 kg per ha), and superphosphate (180 kg per ha), on the *Sorosporium* infection of maize was investigated. The fertilizers were applied at the time of planting and thoroughly mixed with the soil in the hole. In the middle of the hole a pit was made by means of the dibble, and filled with soil mixed with spores (5 g spores per 1 kg earth). The maize seeds were planted in the spore-containing soil, at a depth of 6 cm. The maize ("Portocaliu" variety) was seeded at 60 × 60 cm distances and experiments carried out in two or three replicates.

The variations of *Sorosporium* attacks as related to the fertilizer used are shown in figure 5 (top). The curves of variation represent the 3 years' average of the percentage rates of attacked plants. It may be seen from the figure that, as a rule, the three fertilizers, either alone or in association, decreased the intensity of the attack. In keeping with the results concerning germination, ammonium nitrate had the strongest effect consisting in a decrease of the attack from 65.6 to 16.0 per cent. Potassium likewise decreased the attack to a certain extent, while superphosphate

exerted a less considerable influence. When associated, the three elements (N P K) reduced the rate of attack by almost one half.

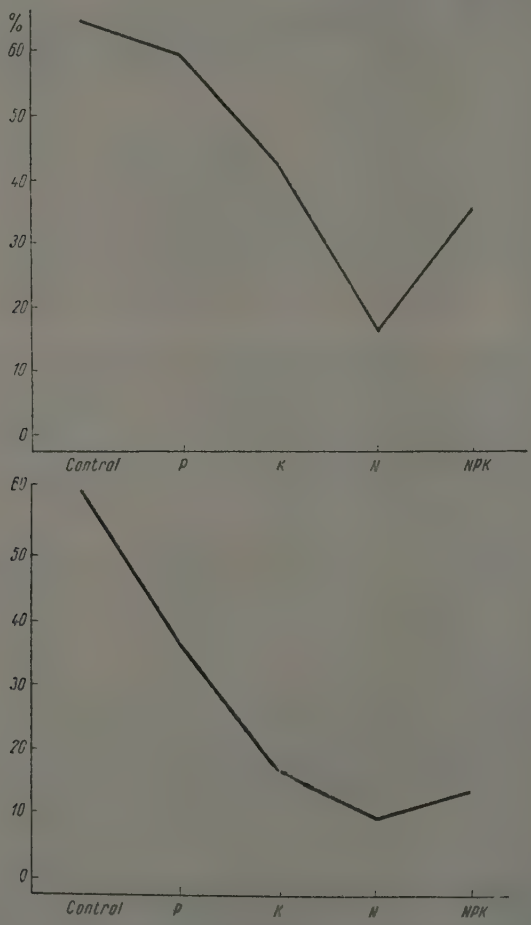


Fig. 5. — The action of mineral fertilizers on spore germination (top) and *Sorosporium* attack (bottom).

It may be inferred from these results that the reducing action exerted by mineral fertilizers on attacks of this fungus is largely due to their inhibiting action on spore germination.

Age of the chlamydospores. When kept in the room or store-house, the spores of the various Ustilaginales are known to lose their germinating capacity in the course of time, the rate of the decrease varying according to the species and to the conditions of storage.

In order to determine the extent to which germinating ability in spores is lost in relation to their age, we determined in February 1959 the germination rates of chlamydospores collected in 1954, 1955, 1956, 1957 and 1958, and stored under ordinary laboratory conditions. The diagram in figure 6 features germination of the spores collected in the above-

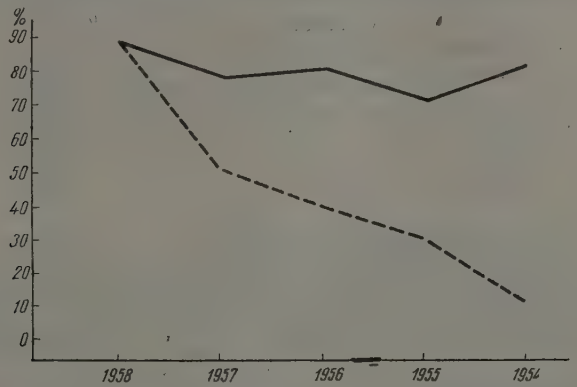


Fig. 6. — Decrease of germinating ability of spores in relation to their age (the upper curve features spore germination in the year of their collection).

mentioned years (lower curve) as compared to the germinating ability they had exhibited 5 months after their collection (upper curve).

From the results obtained in these experiments concerning germination, the germinating capacity of the spores may be seen progressively to decrease together with their increasing age. Thus for instance, after four years of storage the rate of germination of the spores collected in 1954 had decreased from 83.50 to 13.15 per cent.

The capacity of the chlamydospores to cause infection decreased at the same rate. In an experiment carried out in 1957, two varieties of maize were artificially infected with spores collected in 1954, 1955 and 1956 and stored under laboratory conditions. The results obtained are shown in table 1. It may be seen from this table that the attack of *Sorosporium* decreases along with the increasing age of the spores used for infection. There is an obvious parallelism between spore germination and the rate of infection.

Age of the seedlings. Infection due to *Sorosporium holci sorghi* is known to take place during the first phases of development of maize seedlings, but there is no information available concerning the period

during which the seedling remains susceptible to infection with this fungus. Experimental investigations in *Tilletia tritici* [2] have shown that the period of susceptibility to infection is comparatively short and lasts till the seedling reaches a length of about 2 cm. As regards maize, according to Kispatič and Lušin [3], it exhibits a maximum of susceptibility to *Sorosporium* at the time the seedling reaches a size of 0.5 cm.

Table 1

Variation of infection in maize according to the age of the chlamydospores

Age of chlamydospores	Germinating capacity of chlamydospores (per cent) 1957	Percentage of infected plants	
		Portocaliu	Galben timpuriu
1956	81.09	70.40	54.03
1955	56.55	47.95	30.22
1954	44.56	30.68	19.29

On the basis of experiments performed in 1955, 1957, 1958 and 1959, we were able to estimate the approximate length of the critical stage during which infection of maize takes place and to confirm the results obtained by Kispatič and Lušin, i.e. that the rate of infection is highest at a time when the seedling has a few millimetres in length (2—5 mm).

The experiments were carried out in the hothouse and in the field, the latter being repeated two or three times. In the field, maize was planted at 8 cm depth and 70 × 70 cm distances. The seedlings were subsequently infected at various intervals, i.e. the seedlings of each variant during a certain stage of their development. Thus, for instance, in the first variant infection was performed at the time of planting, the maize kernels being introduced into pits made by means of the dibble and covered with soil mixed with chlamydospores. In the other variants, infection was carried out as follows: the soil around the seedlings was removed down to their roots and the seedlings were again covered with soil mixed with chlamydospores. This operation was performed at 2—7 days' intervals during and after emergence, till the plants reached a height of 60—80 cm. Each time the soil was removed the length of the seedlings was measured (from the hypocotyl to the tip).

The results obtained in different years are similar with one another and show the critical period of susceptibility to the infection to last from the beginning of germination of the seed up to the time the seedling reaches a height of about 24—26 cm. In plants surrounded with spore-containing soil after having reached this size, no manifest attaćk of the fungus was demonstrable. As expressed in days, the critical period ranged from 16 to 24 days in relation to the time of planting i.e. to the temperature. Later planting resulted in a quicker growth of the plants due to the higher

temperature; the height limit up to which the plants may contract infection was consequently sooner attained.

The diagram in figure 7 illustrates the above by rendering the results of the experiments performed in 1958.

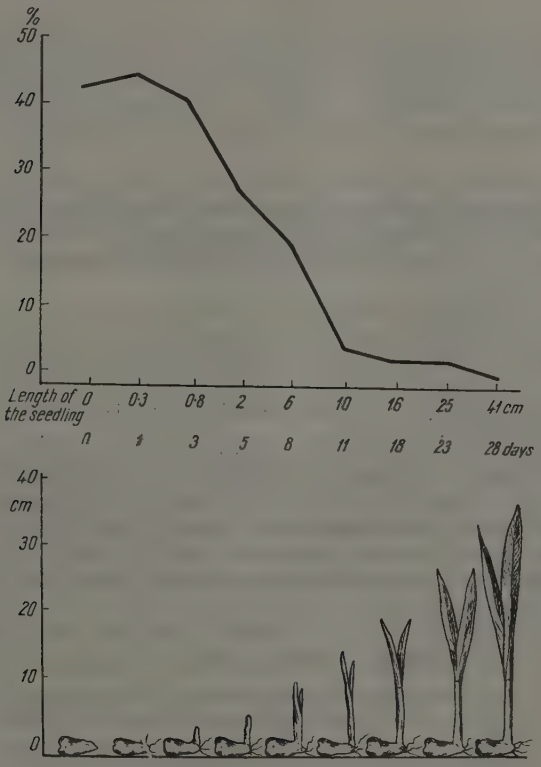


Fig. 7. — The variation of infection with *Sorosporium* in connection with the different phases of germination and vegetation of the seedling.

CONCLUSIONS

1. Chlamydospores of *Sorosporium holci sorghi* f. *zeae* germinated between 11 and 34°C, the optimum temperature for germination being of about 28°C. Infection of maize with this fungus took place between the same temperature limits, the highest rate of infection being likewise obtained around 28°C.

2. Soil humidity exerted an obvious influence on maize infection with this fungus, inasmuch as the rate of attack increased as soil moisture decreased.

3. Maize seedlings grown in the dark during the first stages of their development were more susceptible to infection than those exposed to light.

4. The hydrogen ion concentration in the germination medium and in the soil exerted an influence on the chlamydospore germination of this fungus and at the same time on its infection. The highest germination and infection rates were obtained at pH 7—8. Higher or lower pH figures resulted in proportionately lower rates of germination and of infected plants.

5. The addition of mineral fertilizers to the germination medium exerted an inhibiting action on chlamydospore germination. Ammonium nitrate exhibited the strongest and superphosphate the lowest activity. In field tests, the fertilizers reduced the infection of maize with this fungus to the same extent.

6. The germinating ability of chlamydospores of *Sorosporium* decreased progressively in relation to their period of storage. After four years of storage in ordinary room conditions, the germinating ability of chlamydospores decreased from 83.50 per cent to 13—15 per cent. The ability of chlamydospores to cause infection also decreased in relation to the period of storage.

7. *Sorosporium* attacks only occurred in plants infected before reaching the height of 24—26 cm (from the hypocotyl). This size may be attained by maize plants in 16—24 days following the beginning of germination of the seeds, in relation to the time at which planting has been performed. The later planting was carried out, the shorter was the time required by the plants to attain the size beyond which they can no more be infected.

Maize seedlings exhibited the highest degree of susceptibility at the time when they had reached about 3 mm in length.

Cluj, Farming Research Station of the Institute for Farming Researches of the Academy of the R.P.R.

REFERENCES

1. CHRISTENSEN J. J., Phytopathology, 1926, 16.
2. GASSNER G., TIEMANN E., Phytopath. Zeitschrift, Bd. 22, H. 1, 1954, 22, 1.
3. KISPATIĆ J., LUŠIN V., Zastita Bilja, 1952, 12 : 1954, 25. Ref. in Zeitschr. f. Pflanzenkr. u. Pflanzenschutz, 1953, 9—10, a. 1956.
4. NEMLIENKO F. E., Vestn. Zasci Ras., 1940, 1—2.
5. POTTER A., Journ. Agr. Res., 1914, 14.
6. RABIEN H., Arb. a. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstw., 1927, 15.
7. RADULESCU E., POPESCU I., PERSICA E., Studii și cercetări de agronomie, Acad. R.P.R., Cluj, 1958.
8. SĂVULESCU TR., *Ustilaginalele din R.P.R.*, Bucharest, 1951.
9. SĂVULESCU A., *Porumbul*. Monograph, Bucharest, 1957.

LES PARASOMES DE LA GLANDE ALBUMINIPARE D'*HELIX POMATIA* L.

PAR

M. IONESCU-VARO

En 1896, Henneguy démontrait que les parasomes étaient des corpuscules plus denses et plus réfringents que le reste du cytoplasme, ayant un aspect homogène ou feuilleté et représentant une condensation d'ergastoplasme, riche en riboprotéines [3].

Chez les Mollusques, ils ont été décelés pour la première fois par Pacaut et Vigier (1905—1906), dans les zymocytes et les mucocytes des glandes salivaires d'*Helix*. En 1934, Voinov a repris l'étude des parasomes des glandes salivaires d'*Helix* et élaboré la théorie des structures ergastoblastiques.

Etudiant le processus cytologique de la sécrétion des voies génitales et des glandes annexes de l'appareil génital chez les Gastropodes pulmonés, Filhol a décrit des parasomes dans la glande albuminipare aussi. Filhol étudie le chondriome et l'appareil de Golgi de la glande albuminipare de *Limnea limosa*, *Arion rufus* et *Helix aspersa* et considère les parasomes comme un cytoplasme d'attente, sans existence permanente dans les cellules. Des travaux plus récents, que l'on doit à Martoja-Pierson et à Alaphilippe (1958—1959), analysent certains aspects histochimiques de la glande albuminipare, mais ne signalent plus la présence des parasomes.

Les techniques modernes d'histochimie dont nous disposons actuellement nous permettent d'élucider une série de questions relatives à ces structures : leur origine et leur composition chimique, leur rôle au cours du cycle sécrétoire de la cellule, leur existence temporaire ou permanente et leur rapport avec le produit de la sécrétion.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nos études ont porté sur la glande albuminipare d'*Helix pomatia* L. recueillie au printemps, en été et tard en automne. Nous avons également étudié la glande de quelques animaux tenus à jeun et à basse température, à l'automne et au printemps. Tous les animaux étaient sains. Les fixations ont été faites au Helly et au formol-acétate de plomb.

La présence des acides nucléiques a été établie à l'aide des méthodes suivantes :

a) méthode de Feulgen, à la carbofuchsine dissoute dans de l'alcool méthylique à 10% et préparée selon les prescriptions de Barger ;

b) méthode au vert de méthyle-pyronine G., en solution tampon de véronal sodique (pH = 5). La digestion de l'acide ribonucléique a été faite à l'acide perchlorique à 10%, pendant 12 heures à 3°, ou à la ribonucléase pancréatique, préparée selon la méthode de Roskine ;

c) méthode à la gallocyanine-alun de chrome (pH = 1,64).

Pour les protéines nous avons employé :

d) la méthode d'Alfert et Geschwind au Fast green (pH = 8), qui indique les protamines, les méthyle-sérum-albumines et les histones ;

e) la méthode de McManus pour les mucoprotéines ;

f) la modification apportée par Ficq à la méthode de Mazia, pour les riboprotéines (coloration à l'aide d'une solution mercurique de bleu de bromphénol, après digestion des riboprotéines) ;

g) la méthode de Danielli-Pearse de combinaison des protéines à la benzidine tétra-azotée et couplage des groupes diazo-résiduels libres et de l'acide amino-naphtol disulfonique ;

h) la détermination quantitative de l'acide ribonucléique dans les parasomes a été faite au histo-photomètre construit par le Dr Gabrielesco, sur des préparations colorées au vert de méthyle-pyronine.

Pour les lipides nous avons appliqué :

i) la méthode de Lillie, à l'Oil red O en alcool isopropylique, et les méthodes plus anciennes, au noir de Sudan B, Sudan III et bleu de Nil.

RÉSULTATS

La glande albuminipare des Gastropodes sécrète une substance extrêmement riche en mucoprotéines. La réaction de McManus pour les mucopolysaccharides est excessivement marquée, tant dans les gros granules de sécrétion, du pôle apical des cellules, que dans le cytoplasme basilaire périnucléaire, qui contient de petits granules de polysaccharides. Ces cellules présentent des parasomes en permanence au cours de leur entier cycle sécrétoire. On les trouve en général dans le cytoplasme basophile périnucléaire et parfois aussi — bien que plus petits —, dans le cytoplasme entre les granules de sécrétion. Ces parasomes dont le nombre varie entre 5 et 10, se trouvent très souvent à la limite entre le cytoplasme basophile, à la base de la cellule, et la masse des granules qui se trouve à la moitié supérieure de la cellule (fig. 1 *A*). Chez les animaux inanitiés,

au printemps — après l'hibernation —, le produit élaboré par la glande disparaît et les parasomes, en se développant, occupent tout le pôle apical de la cellule (fig. 1 *C*). Naturellement, dans ces cas, le volume de la cellule diminue jusqu'au quart du volume de la cellule remplie de granules de sécrétion.

Partant de la conception que les parasomes sont un ergastoplasme condensé, nous avons voulu vérifier, à l'aide d'une série de techniques histochimiques, la validité de cette opinion.

Les riboprotéines, mises en évidence par des méthodes convergentes, soit au vert de méthyle-pyronine, soit à la gallocyanine (pH = 1,64), soit indirectement, au bleu de bromphénol après digestion de l'ARN, se trouvent en grande quantité dans les parasomes. Les mesures histo-photométriques ont prouvé que chez les animaux inanitiés, au printemps, les parasomes sont de 51% plus colorés que le cytoplasme basophile dans lequel ils se trouvent. Chez les animaux chez lesquels les cellules conservent le produit de sécrétion, ce taux est de 48%. Les noyaux des cellules de la glande albuminipare, des animaux à jeun, au printemps, ont un aspect fortement chromatique, la réaction de Feulgen étant intensément positive, et ils contiennent de l'ARN en plus forte quantité que les noyaux des cellules remplies de granules de sécrétion. Ce fait nous a suggéré l'idée de l'étroite interdépendance qui existe entre l'ADN et l'ARN dans la vie de la cellule : l'ADN est, selon certains auteurs (Brachet, 1958), l'organisateur de la synthèse de l'ARN nucléaire, qui, à son tour, passant dans le cytoplasme, sert de moule à l'élaboration des protéines. Cette filiation directe, ADN — ARN — protéines élaborées sous forme de granules de sécrétion, ressort du fait que la chromatine même des cellules riches en riboprotéines cytoplasmiques se colore en bleu-violet, par le vert de méthyle-pyronine, et en vert, après la digestion de l'ARN. Dans les cellules où le nombre des parasomes baisse et celui des granules augmente de beaucoup, les noyaux ont un volume plus réduit et la quantité d'ARN de la chromatine nucléaire diminue. Ces noyaux prennent une coloration verte au vert de méthyle-pyronine.

Les noyaux, le cytoplasme basophile, périnucléaire et périgranulaire, tout comme les parasomes, donnent une réaction intensément positive à la benzidine tétra-azotée, ce qui indique une teneur protidique riche en tyrosine, tryptophane et histidine.

Les parasomes et la chromatine accusent également une riche teneur en protéines basiques, du type des protamines, colorables au Fast green (pH = 8), après digestion des deux acides nucléiques à l'acide trichloracétique à 5%, 15 minutes, à 90°.

Une autre caractéristique de cette cellule glandulaire est que, outre la riche teneur en mucopolysaccharides et riboprotéines, elle contient aussi des graisses. La coloration au noir de Sudan B met très clairement en évidence les moindres gouttes de lipides ainsi que des plages étendues dans tout le cytoplasme basal de la cellule. Bien plus, ces gouttes sont décelables aussi dans le cytoplasme basophile entre les granules (fig. 4 *B*). A l'aide de cette technique, les parasomes ressortent en gris, ce qui indique

a teneur lipoprotéique des lamelles d'ergastoplasme. Robertson a montré qu'à la surface de séparation, entre la phase lipidique et la phase aqueuse, les molécules d'amino-acides doivent se ranger dans une position telle que le carboxyle hydrophile et les groupes aminiques soient disposés à l'intérieur de la phase aqueuse et les chaînes de carbone, parallèles les unes aux autres, à l'intérieur de la phase lipidique. La forte concentration locale et la disposition rapprochée des groupes hydrophiles doivent contribuer à la synthèse des liaisons peptidiques. Le système de membranes concentriques des parasomes offre aux amino-acides la possibilité de s'orienter de cette manière, contribuant ainsi à la synthèse des protéines élaborées. Au fur et à mesure de la transition de la cellule glandulaire à la cellule des canaux de la glande (fig. 2 *B*), la teneur en gouttes de lipides augmente, cette augmentation étant inversement proportionnelle à la baisse du nombre des granules de mucopolysaccharides. Dans certaines cellules glandulaires aussi, dont la teneur en granules de mucopolysaccharides est faible, le cytoplasme basilaire est cependant chargé de lipides. Les images obtenues par coloration à l'Oil red O, en alcool isopropylique, font ressortir avec un contraste frappant l'existence des moindres gouttes de lipides (fig. 4 *A*).

Dans les cellules remplies de granules de sécrétion, le noyau est repoussé vers le pôle basal et aplati, se moulant aux espaces entre les granules. La quantité de cytoplasme diminue dans ces cellules, tout comme sa basophilie totale et les lipides qu'il contient.

CONCLUSIONS

Les parasomes de la glande albuminipare d'*Helix* sont des condensations d'ergastoplasme, qui se trouvent en permanence dans la cellule et jouent le principal rôle dans l'élaboration de la sécrétion mucoprotéique de cette glande. Ces formations donnent une forte réaction positive aux riboprotéines et une réaction plus faible aux lipides. La réaction aux mucopolysaccharides est très faiblement positive dans les parasomes, mais intense dans le reste du cytoplasme et dans les granules de sécrétion. Les parasomes contiennent de la tyrosine, du tryptophane et de l'histidine. Il y a un parallélisme entre la teneur en riboprotéines du cytoplasme et sa teneur en lipides. A mesure que la cellule se remplit de granules de sécrétion, la quantité de cytoplasme riboprotéique, avec les gouttes de lipides qu'il contient, diminue.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALAPHILIPPE FR., *Contribution à l'étude anatomique et histologique des voies génitales de Planorbarius corneus L.* Bull. Biol., 1959, **93**, *3*, 260—287.

2. FILMOL J., *Recherches sur la nature des lépidosomes et les phénomènes cytologiques de la sécrétion chez les Gastropodes pulmonés. I. Généralités ; glande hermaphrodite, glande de l'albumine.* Arch. Anat. micr., 1938, **34**, *1*, 155—180.

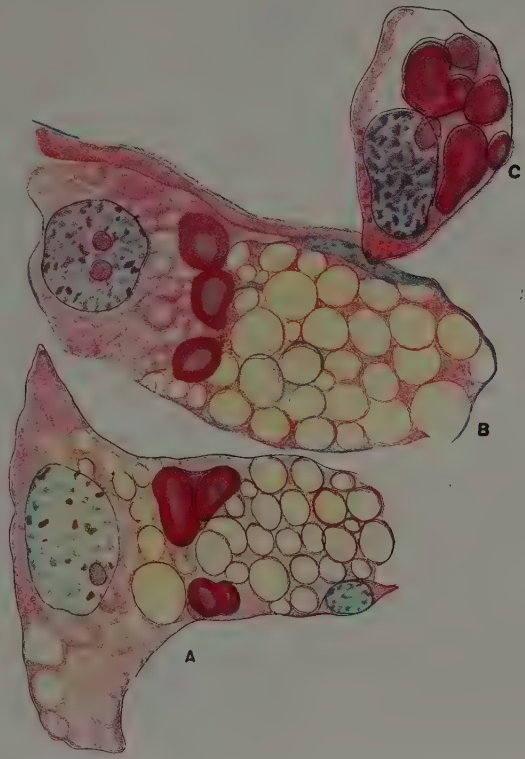


Fig. 1. — Cellules sécrétrices de la glande albuminipare d'*Helix pomatia* L. *A*, La cellule sécrétrice de l'animal en automne ; *B*, en hiver ; *C*, cellule sécrétrice d'un animal soumis à l'inanition depuis deux mois, au printemps, après l'hibernation. Fixation au Helly ; coloration au vert de méthyle pyronine.

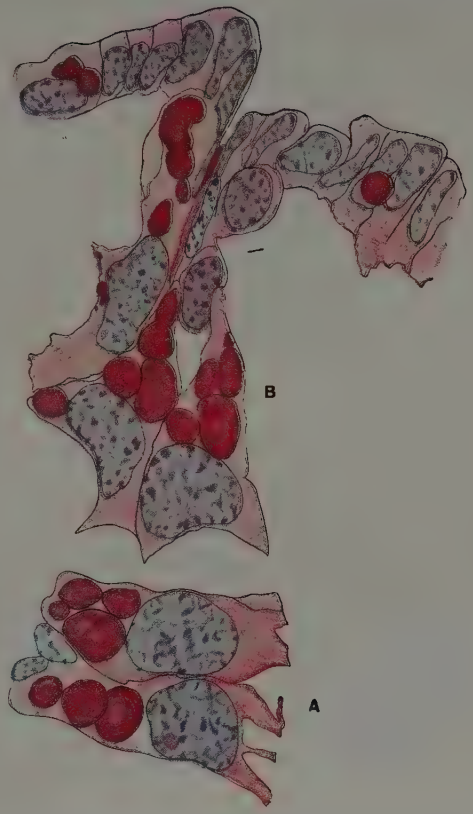


Fig. 2. — *A*, Cellules sécrétrices d'un animal inanitié, au printemps, après l'hibernation ; *B*, transition des cellules sécrétrices aux cellules du canal glandulaire.

Fig. 3. — *A*, Mucopolysaccharides dans une cellule provenant d'un animal inanitié, au printemps, après l'hibernation ; *B*, mucopolysaccharides dans une cellule fixée en automne ; *C*, réaction de Ficq dans une cellule dépourvue de granules de sécrétion ; *D*, réaction de Feulgen.

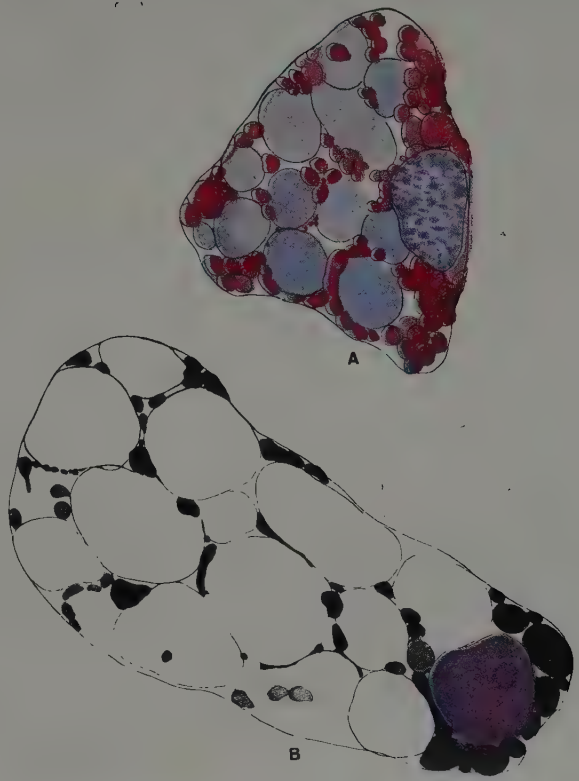


Fig. 4. — Cellules glandulaires de la glande albuminipare d'*Helix pomatia* L. *A*, Lipides mis en évidence à l'Oil red O ; *B*, lipides mis en évidence au noir de Sudan B.

3. HAQUENAU F., LACOUR F., *Cytologie électronique des tumeurs hypophysaires expérimentales; leur appareil de Golgi*, in *Fine structure of cells*. Groningen, 1955.

4. HOLM L. W., *Histological and functional studies on the genital tract of Limnea stagnalis oppressa Say*. Trans. Amer. micr. Soc., Menasha, **65**, *1*, 45—68.

5. JUGA V. G., DORNESCU G. TH., *Les parasomes*. An. Acad. Rom., Mem. Sect. ştiinţ., Seria III, 1941, **16**, *24*.

6. КЕДРОВСКИЙ Б. В., *Цитология синтеза белковых веществ в клетке животного*. Москва, 1959.

LE RÔLE DES PROCESSUS MÉTABOLIQUES AÉROBIES DANS LA PHYSIOLOGIE DES MUSCLES LISSES

PAR

N. ŞANTA et C. GURBAN

Le métabolisme des muscles a fait jusqu'ici l'objet de bien des recherches, dont la plupart consacrées au métabolisme des glucides. On peut affirmer que le métabolisme intermédiaire des glucides a été élucidé surtout par des études portant sur les muscles striés. Pour ce qui est des recherches sur le métabolisme des muscles lisses, leur nombre est encore étonnamment réduit.

Les premières recherches dans ce domaine ont été entreprises par P. Neukirch et P. Rona [3]. Ces auteurs ont constaté que, lorsque le glucose fait défaut, les muscles de l'intestin isolé de lapin deviennent incapables d'une activité motrice, même s'ils sont bien oxygénés. Mais, après administration de glucose, ils reprennent très vite leur activité et peuvent l'entretenir longtemps.

Le fait a été confirmé par la suite, par Lovatt-Evans [2], Ronzoni [4] et par Sévérine et Dikanova [5]. Une étude plus approfondie de la question a été entreprise par Furchgott et Schorr [1]. Il résulte de ces recherches que les muscles lisses utilisent le glucose comme source d'énergie tant dans des conditions aérobies que dans l'anoxie, donc que leur fibres peuvent être le siège d'une *glycolyse anaérobie*.

Au cours de nos études — que nous poursuivons depuis longtemps — sur la physiologie des muscles lisses de l'estomac de grenouille, nous avons constaté que, en solution de Ringer sans glucose, ces muscles peuvent manifester une activité motrice très soutenue, ce qui constitue la preuve d'une autre source énergétique dont ils disposeraient.

D'autre part, des recherches faites dans notre laboratoire, par C. Vlădescu [1], ont démontré que le glucose introduit dans les sacs lympha-

[1] C. Vlădescu, *Glicemia normală şi hiperglicemia provocată la Rana ridibunda* (Glycémie normale et hyperglycémie provoquée chez *Rana ridibunda*), Comunicările Acad. R.P.R., 1961, **11**, *8* (sous presse).

tiques des grenouilles (*Rana ridibunda*) est très vite éliminé par voie rénale et n'est utilisé dans les processus métaboliques (ana- et cataboliques) qu'en très faible mesure.

En raison des données que nous venons d'exposer, nous nous sommes proposé d'entreprendre certaines recherches sur le métabolisme des muscles lisses. Ci-après nous donnons les résultats obtenus au cours de quelques expériences relatives au comportement des préparations d'estomac isolé de grenouille, tant dans des conditions aérobies, que dans des conditions anaérobies.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Au cours de ces recherches, nous avons utilisé, comme matériel expérimental vivant, des préparations d'estomac isolé de grenouille. Nous avons déjà exposé [6] [7] les qualités et les avantages de ce matériel expérimental.

Nous avons préparé l'estomac isolé et travaillé avec cette préparation suivant une méthode décrite en détail dans une autre publication [7].

Nos expériences ont consisté à stimuler et mobiliser les préparations d'estomac par des courants faradiques, de tensions et durées d'action différentes, tant dans des conditions d'oxygénation suffisante de la solution physiologique de la cuve où se trouvait l'organe, qu'après l'interruption temporaire de l'apport d'oxygène. Nous avons surtout étudié l'effet de ces conditions sur un phénomène que nous avons découvert dans des expériences antérieures et que nous avons appelé « paradoxal ». Ce phénomène se manifeste, en essence, par une suppression de l'activité motrice spontanée et de la réactivité des préparations lors de leur excitation, et par la réapparition énergique de ces propriétés à la fin de l'excitation (v. fig. 3).

RÉSULTATS

Nous donnons un exposé succinct des résultats obtenus, en ce qui concerne :

1. l'activité automatique ;
2. les réactions à une série de faradisations de peu de durée ;
3. les réactions à des faradisations de longue durée, qui provoquent d'habitude des effets paradoxaux.

1. *L'activité motrice automatique des préparations, dans des conditions d'aérobiose et d'anaérobiose*

A ce sujet, nos observations confirment pleinement les données antérieures sur l'importance de l'oxygène pour assurer une telle activité. Nous ne les relaterons que pour avoir un terme de comparaison immédiate.

En général, lorsque les préparations d'estomac isolé de grenouille se trouvent dans des conditions physiologiques favorables, elles manifestent

une activité motrice automatique plus ou moins intense. Mais, il suffit de supprimer l'aération de la solution saline physiologique (Ringer), dans laquelle elles baignent, pour qu'elles accusent, bientôt, une diminution progressive du tonus général et de l'amplitude des contractions isolées. Au bout de quelques minutes, on observe la disparition de toute activité motrice, tandis que le tonus continue à baisser (fig. 1).

Si l'on procède à l'aération de la solution physiologique de la cuve, la préparation reprend peu à peu son activité et revient, finalement, à la motilité initiale.

Le retour à une activité normale est possible même à plusieurs heures de la suppression de l'aération, ce qui dénote que, dans ces conditions, la préparation ne subit pas d'altérations fonctionnelles irréversibles.

Fig. 1. - Effet de la suppression de l'aération et d'une nouvelle aération, sur l'activité motrice automatique d'une préparation d'estomac isolé de grenouille.

Devant ces constatations, la question qui s'impose à nous est la suivante : la cessation de l'activité motrice automatique est-elle le résultat d'un trouble du métabolisme des éléments contractiles ou de celui des éléments générateurs d'impulsions ? Afin d'obtenir une réponse à cette question, nous avons entrepris de contrôler les préparations par des applications de courants faradiques.

2. *La réactivité des préparations à des faradisations de peu de durée, dans des conditions d'aérobiose et d'anaérobiose*

Lorsque l'on travaille sur des préparations actives, à l'aide de faradisations d'une certaine valeur (1,3 V, 5 s, à raison de 2 pér./s), on obtient des réactions plus ou moins intenses, représentées par une contraction tonique, sur le fond de laquelle s'inscrivent d'habitude toute une série de contractions automatiques, suivant un rythme à peu près normal. Nous relèverons que de telles contractions automatiques peuvent apparaître au cours de la faradisation, ou après la fin de celle-ci, même lorsque la préparation était inactive avant l'excitation.

Dans des conditions expérimentales identiques, les mêmes effets peuvent se reproduire, à des intervalles adéquats, pendant plusieurs heures de suite.

Mais si l'on supprime l'aération des préparations, on constate que la réactivité aux faradisations commence à se modifier, tant en ce qui concerne la contraction tonique que les contractions automatiques. La réponse tonique diminue progressivement et disparaît complètement au bout de 20 à 30 minutes (fig. 2). En ce qui concerne la réponse sous forme de contractions automatiques, elle résiste plus longtemps, tout en se simplifiant graduellement.

Les réactions se normalisent rapidement après un apport d'oxygène.

On doit donc retenir de ces expériences que les préparations inactivées par la suppression de l'aération sont aptes à réagir aux stimulations

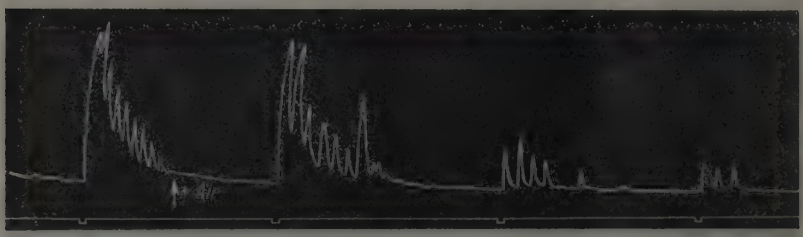


Fig. 2. — Evolution de la réactivité d'une préparation d'estomac isolé de grenouille à une faradisation de 20 s, avec un courant de 1,3 V. On remarque la disparition rapide des contractions toniques. La réactivité persiste encore quelque temps, sous la forme de contractions rythmiques.

électriques, longtemps après la disparition de leur activité spontanée, et que la réponse aux faradisations se manifeste surtout par des contractions automatiques.

Ces résultats sont difficiles à interpréter; on peut, en tout cas, émettre au moins trois hypothèses, notamment : 1° que la stimulation détermine la mobilisation de l'élément qui engendre l'automatisme; 2° qu'elle produit une certaine désinhibition de l'élément contractile; 3° que les deux éléments sont favorisés de cette manière. Une analyse plus approfondie de ces résultats, complétée par les résultats des expériences sur le phénomène paradoxal, peut contribuer à la solution du problème.

3. *Influence de l'anoxie sur le phénomène paradoxal*

Comme nous l'avons montré plus haut, dans des conditions normales, c'est-à-dire lorsque les préparations sont bien aérées, l'application d'un courant faradique, d'environ 1,3 V et 2 pér./s, durant plusieurs minutes, mène à la suppression de l'activité pendant la stimulation puis à une réapparition, brusque et énergique, de cette activité, peu de temps après la fin de l'excitation (fig. 3).

En procédant exactement de la même manière, à des intervalles adéquats (toutes les 10 minutes, par exemple), le phénomène peut être reproduit maintes fois.

Toutefois, si l'on cesse d'aérer la préparation, on constate tout de suite que le phénomène paradoxal se manifeste avec beaucoup moins d'in-

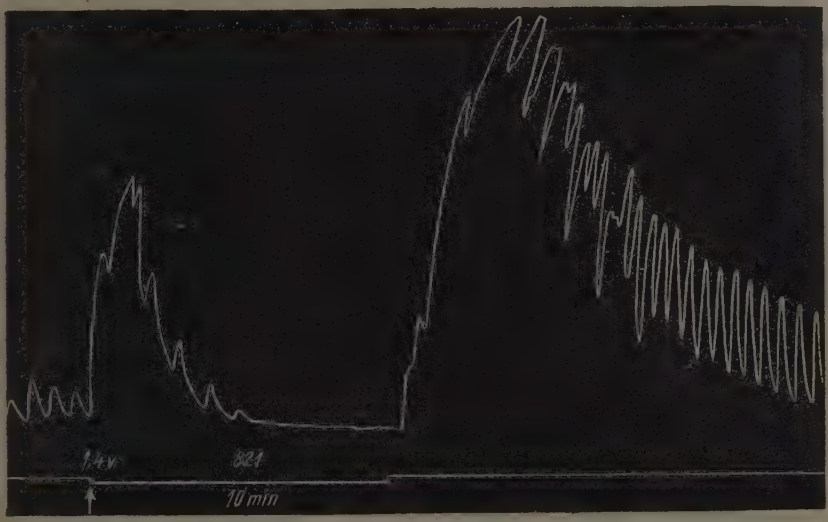


Fig. 3. — Aspect de « phénomène paradoxal » typique, obtenu par une faradisation prolongée (10 min), avec un courant de 1,4 V.

tensité, qu'il s'affaiblit de plus en plus, puis disparaît complètement (fig. 4 et 5).

Dans ces conditions, la préparation réagit à la faradisation, au début, par une contraction tonique, plus ou moins ample, sur le fond de laquelle s'inscrivent une série de contractions automatiques faibles et irrégulières. Pour ce qui est de l'effet de mobilisation postexcitatoire, il est beaucoup plus faible que dans les conditions d'aérobiose et diminue peu à peu, au cours des essais successifs, jusqu'à disparition totale.

Le temps nécessaire à la disparition de la réaction est fort variable d'une préparation à l'autre et, sur la même préparation, on peut constater des différences appréciables entre la réactivité au début du travail et après plusieurs heures d'expérimentation. Nous avons déjà signalé ce fait à une autre occasion. En règle générale, on observe pendant l'expérimentation — même dans des conditions d'aération parfaite — une diminution progressive de la réaction initiale au cours de la faradisation et une intensification de la réaction postexcitatoire [6].

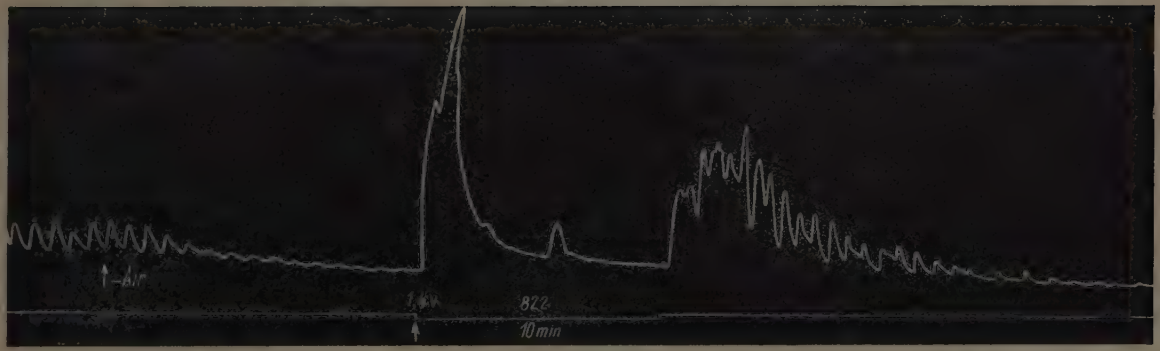


Fig. 4. — Aspect du « phénomène paradoxal » peu de temps après avoir supprimé l'aération de la préparation. Durée de la faradisation : 10 min ; tension du courant électrique : 1,4 V.

Fig. 5. — Suite de l'expérience de la figure 4. Affaiblissement progressif de la réaction paradoxale, au cours de l'anoxie.

Mentionnons également que, au cours de la faradisation à effets paradoxaux, la contraction tonique est affectée la première, et en une bien plus grande mesure.

En apparence, l'élément qui engendre l'automatisme semble continuer à être actif, tandis que l'élément effecteur devient inapte à répondre. En tout cas, il est tout à fait évident qu'une nouvelle aération de la préparation rétablit l'activité motrice, promptement et avec une vigueur accrue.

En même temps, on peut noter quelquefois, sur les préparations fraîches, un certain rétablissement de la capacité de contraction tonique, mais, en général, celle-ci fait défaut.

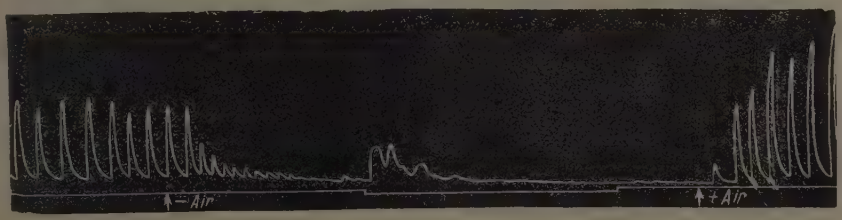


Fig. 6. — Disparition de l'effet paradoxal, dans des conditions anaérobies, et réapparition de l'activité motrice, peu après la reprise de l'aération.

Au cours de nos expériences, nous avons étudié les effets d'une nouvelle aération, non seulement à la fin de la faradisation, mais aussi au cours et surtout vers la fin de l'application des courants faradiques. Dans toutes ces variantes expérimentales, nous avons toujours constaté la nécessité des conditions normales d'activité métabolique des préparations, pour que le phénomène paradoxal se manifeste. Ce sont d'ailleurs les mêmes conditions que réclame l'activité motrice spontanée.

Relativement à ce qui précède, nous devons noter que, si l'on ne rétablit l'aération que quelques minutes après la fin de la faradisation, on n'obtient plus de *réaction* proprement dite, mais, uniquement, un simple rétablissement de l'activité motrice automatique (fig. 6). Afin de contrôler si la disparition de la réaction postexcitatoire dans des conditions anaérobies est due à l'incapacité de réagir de la composante contractile ou à l'absence des impulsions automatiques, nous avons recouru, dans certaines expériences, à des stimulations électriques de peu de durée (5—10 s), appliquées à différents intervalles après la fin de la faradisation prolongée. Dans ces conditions expérimentales, les réactions obtenues ont été extrêmement faibles, ce qui dénote que les éléments contractiles ne disposaient pas de la source énergétique nécessaire à la contraction.

Il serait pourtant erroné de croire que, dans des conditions anaérobies, l'élément qui engendre l'automatisme ne serait pas affecté. En effet, on observe clairement que la suppression de l'aération ne modifie pas seulement l'amplitude des contractions mais en trouble aussi le rythme.

D'habitude, peu de temps après la fin de l'aération, le rythme des contractions déclinantes s'accélère, pour peu de temps, puis elles deviennent de nouveau plus rares et disparaissent ensuite complètement. Après la reprise de l'aération, lorsque l'activité motrice automatique se rétablit, les contractions sont plus rares ou plus fréquentes qu'avant la suppression de l'arrivée de l'air.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les phénomènes analysés dans ce travail représentent l'expression de certaines relations métaboliques, essentielles pour la physiologie des muscles lisses. On vient de voir que, dans conditions d'aérobiose, ces muscles sont capables de remplir des activités variées, et de longue durée, même s'ils sont isolés de l'organisme et privés de toute source extérieure de substances énergétiques. Nous estimons que c'est là une preuve convaincante du fait que les muscles lisses utilisent leurs réserves énergétiques internes d'une manière fort économique et — comme nous l'avons constaté dans des recherches comparatives — bien plus avantageuse que celle des muscles striés.

Nous ne connaissons pas encore la mesure dans laquelle les observations faites sur les préparations d'estomac isolé de grenouille sont valables pour les muscles lisses des autres organes et provenant d'autre espèces animales, mais nous pensons que, chez les animaux homéothermes, la situation n'est pas la même. Une preuve à l'appui de cette dernière hypothèse nous est fournie par le fait que l'activité motrice de l'intestin de lapin cesse en l'absence d'une source extérieure d'énergie (glucose), fait que nous avons relevé dans la partie introductive de cette étude. D'autre part, en présence du glucose, les muscles de l'intestin de lapin peuvent manifester une activité remarquable, tant dans des conditions aérobies que dans l'anoxie, ce qui dénote que le glucose constitue pour eux la principale source énergétique.

La situation est évidemment différente pour les préparations d'estomac de grenouille. Même à supposer que les muscles lisses utilisent, eux aussi, les glucides en tant que substratum énergétique, dans l'anoxie, ils ne peuvent dégager de ce substratum l'énergie qui leur est nécessaire.

L'énergie, fournie par les processus métaboliques, est mise en œuvre, par les muscles lisses, en partie pour assurer certains processus générateurs d'impulsions automatisantes et, en partie, pour effectuer les activités motrices proprement dites. L'émission d'impulsions est assurée au premier chef. En effet, il ressort de nos expériences que, lorsque les préparations sont privées d'oxygène, l'activité motrice automatique cesse, bien que les éléments contractiles soient encore longtemps capables de réagir aux excitants électriques. Bien plus, la réaction se manifeste surtout par la reprise, pour peu de temps, de l'activité motrice automatique. Par conséquent, les phénomènes se présentent comme si le flux d'électrons, représenté par l'excitant électrique, suppléait au déficit énergétique dû à la cessation des processus métaboliques aérobies, processus qui — en dernière

analyse — servent à détacher les électrons du substratum et à les transporter, afin qu'ils soient ensuite incorporés par l'oxygène.

En ce qui concerne le « phénomène paradoxal », nous avons montré qu'il doit être regardé comme un effet de l'intervention des composantes nerveuses intrinsèques, la composante adrénergique finissant par prédominer au cours de l'excitation prolongée et la composante cholinergique réapparaissant à la fin de l'excitation [6] [7]. En apparence, tout se passe comme si la composante adrénergique exerçait sur le métabolisme de ces muscles une influence de même sens que celle du déficit d'oxygène, et le fait que, dans des conditions d'anaérobiose, le phénomène paradoxal ne peut plus se manifester constituerait une preuve, non pas d'une simple défaillance de la composante cholinergique, mais bien de l'abolition de son activité.

En conséquence, le métabolisme aérobie est nécessaire, tant pour l'activité et la réactivité normales des composantes musculaires de ces préparations, que pour les composantes nerveuses intrinsèques, auxquelles elles sont étroitement liées.

CONCLUSIONS

De l'ensemble des données exposées dans ce travail, les conclusions suivantes se dégagent :

1. Dans des conditions aérobies, les préparations d'estomac isolé de grenouille peuvent manifester une activité motrice soutenue, en l'absence de toute source énergétique extérieure.

2. A défaut d'oxygène, l'activité automatique cesse très vite, quoique la réactivité aux excitants électriques persiste encore, un certain temps.

3. Dans l'anoxie, le « phénomène paradoxal » est également aboli, ce qui est dû à la cessation de l'activité des composantes nerveuses intrinsèques.

4. Les processus métaboliques aérobies sont aussi nécessaires pour assurer l'automatisme et la réactivité des composantes musculaires lisses, que pour entretenir l'activité des composantes nerveuses végétatives intramurales.

BIBLIOGRAPHIE

1. FURCHGOTT R., SCHORR E., *Effect of anoxia on contractility and metabolism of intestinal smooth muscle.* Amer. J. Physiol., 1950, **162**, 88.
2. LOVATT-EVANS CH., *The lactic acid content of plain muscle under various conditions.* Biochem. J., 1925, **19**, 115.
3. NEUKIRCH P., RONA P., *Experimentelle Beiträge zur Physiologie des Darmes. I.* Pflügers Arch. f. die ges. Physiol., 1912, **144**, 555.
4. RONZONI E., *Comparison of the lactic acid metabolism of smooth and striated muscle.* J. biol. Chem., 1928, **78**, 1 v.
5. СЕВЕРИН С., ДИКАНОВА А. А., *Углеводный фосфорный обмен гладких мышц.* Биохимия, 1952, *5*, 584.
6. ŞANTA N., MEDEŞAN C., *Un procedeu experimental cu dublu control pentru cercetări asupra muşchilor netezi.* Comunicările Acad. R.P.R., 1959, **9**, *11*, 1165.
7. ŞANTA N., GURBAN C., *Comportarea complexului mio-neural al stomacului izolat de broască faţă de unii excitanţi electrici.* Studii şi cercet. biol., Acad. R.P.R., 1960, **12**, *3*, 297.
8. — *Influenţa componentei nervoase simpatice asupra motilităţii viscerale.* Soc. Şt. Nat. Geogr., Comunicări de zoologie, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1960, 55—67.

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЭСТРОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА РАЗВИТИЕ ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН

Проф. М. ДИНУ, инж. И. ПЭДУРАРУ, Г. АПОСТОЛ

Влияние эстрогенных веществ на рост организма и на функционирование половых желез не вполне еще выяснено. Некоторые авторы как Хукер и Пффейфер [5], М. Зильберберг и Р. Зильберберг [15], Симсон и сотр. [16] и др. указывают, что продолжительное введение эстрогенных веществ до наступления половой зрелости приводит у млекопитающих, в частности у кастрированных, к остановке их роста, а Хаммонд и Дей (цит. из [10]) утверждают, что применение больших доз эстрогенных веществ ведет к блокировке яичников, вызывая состояние полового покоя. Задержка общего развития приписывалась косвенному действию, вызванному торможением отделения соматотропного (Риче и Леонард [13]) и тиреотропного (Грумбрехт и Лезер, Симсон и Эванс, Паеси и Хеогстра — цит. из [17]) гормонов и прямому действию на скелет [3] и на щитовидную железу, снижающему ее деятельность (Арон и Бенуа, Милку и сотр. — цит. из [17] и др.) или же нейтрализующему периферическое действие гормона щитовидной железы (Шервуд, Гесслер, Махо—цит. из [17] и др.).

В предыдущих работах [1] мы показали действие эстрогенных веществ на устранение фазы овуляции из полового цикла, а в настоящей работе сообщаем результаты опытов по установлению влияния синтетических эстрогенных веществ на развитие диаметра поперечно-полосатых мышечных волокон и на динамику увеличения веса и химического состава мышечных волокон.

Вопрос этот является весьма интересным, в особенности если учесть тот факт, что после рождения количество мышечных волокон остается постоянным, а развитие их происходит исключительно путем их гипертрофии (Шиффердекер—цит. из [17], Мак Микан—цит. из [7], Элиот и сотр.— цит. из [7], Меара—цит. из [7], [2] и др.), а в период роста увеличение массы тела происходит, главным образом, за счет поперечно-полосатой мускульной ткани.

ПОДОПЫТНЫЙ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ РАБОТЫ

Опыты проводились на 3-х группах молодняка свиней белой крупной породы: контрольная группа, группа, которой вводились эстрогенные вещества, и группа, подвергнутая хирургической кастрации в день введения первой дозы эстрогенных веществ, по 10 животных в каждой группе. Мы выбрали этот вид вследствие того, что он в большей мере отвечает преследуемой цели, имея весьма быстрый темп развития, причем вес взрослого животного достигает в сто раз большей величины, чем при рождении, в течение нескольких месяцев (Франк — цит. из [7]), а диаметр мышечного волокна является наибольшим из всех видов домашних животных, за исключением лошади (Варрингшальц — цит. из [7]), что позволяет проведение микрометрического анализа в хороших условиях.

Ввиду того, что диаметр мышечного волокна варьирует в зависимости от возраста, веса тела, породы и проч. [7], [8], [9], мы постарались составить наиболее однородные подопытные группы, на основе принципа индентичности.

В начале опытов экземпляры женского пола были 5-месячного возраста до начала первого проявления полового инстинкта, в период интенсивного развития организма; к концу же опытной работы их возраст в среднем достигал 9 месяцев.

Из эстрогенных препаратов применялся „Стильбен". В начале опытов каждому животному было введено под кожу по 30 мг препарата, а через 10 дней была введена другая доза в 30 мг.

В течение всего периода опытной работы учитывались аппетит, количество съеденной пищи, способ проявления полового влечения, состояние здоровья, динамика увеличения веса и поведение животных.

В конце опыта все животные были забиты, причем из средней части мышцы proas major были взяты пробы для определения диаметра поперечно-полосатого мышечного волокна и для химического анализа. Выбор для анализа мышцы proas major объясняется равномерностью ее мышечных волокон и большому их числу на единицу площади [4].

Фиксирование делалось в формалине (1 : 4) немедленно после взятия проб, а срезы производились на замораживающем микротоме поперек оси волокон. Срезы окрашивались пикрофуксином, а заключение препаратов — сиропом Апати. Из каждой пробы были отобраны по 5 препаратов, которые исследовались под микроскопом. Измерения делались с помощью ланаметра Цейсса с увеличением в 500 раз.

В контрольной группе для каждого экземпляра производилось по 500 определений диаметра мышечных волокон. На основании статистического исследования, для остальных двух групп число определений было уменьшено до 200 для каждого экземпляра. Общее число определений в контрольной группе равнялось 4000; в группе, которой вводился эстрогенный препарат, — 2600, а в группе хирургически

кастрированных животных — 1600. Подсчет средних результатов был сделан на основании этих определений.

Химический анализ производился на свежих пробах, причем определялось содержание сухого вещества (высушивание при 105° С), белковых веществ (по методу Кьельдаля), жиров (путем извлечения этиловым эфиром по методу Сокслета) и минеральных солей (сжигание при 500—600°С).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Животные из группы, которым вводились синтетические эстрогенные вещества, в течение первого месяца после их введения находились в состоянии постоянного возбуждения, с явным проявлением продолжительного полового влечения и чрезвычайно воспаленным и опухшим влагалищем. Аппетит у них был слабый, ели они с трудом, и прибавление веса у них было замедленное. В первой половине опыта у этой группы животных развитие отставало; но это отставание в прибавке веса было восстановлено во втором периоде опыта за счет усиленного потребления корма. К концу опыта средний вес животных из группы, которым вводились эстрогенные вещества, приближался к весу контрольной группы, что следует из таблицы № 1.

Таблица № 1

	Начало опыта			Конец опыта		
	число животных	средний возраст в месяцах	вес тела в килограммах	число животных	средний возраст в месяцах	вес тела в килограммах
I (Контроль)	10	5	45,0 (43,5—51,0)	10	9	104,2 (93,5—111,0)
II (Введение препарата эстрогенного действия)	10	5	43,6 (40,5—49,5)	10	9	102,4 (91,0—105,5)
III (Кастрированные хирургическим способом)	10	5	49,0 (46,5—55,0)	10	9	124,8 (116,5—132,5)

Средний ежедневный привес тела был более лучшим у группы животных, кастрированных хирургическим путем, а наименьший у группы животных, которым вводились эстрогенные вещества.

Относительно средний привес тела представлен на рис. 1.

Средние данные поперечного сечения полосатых мышечных волокон, дисперсия, стандартные отклонения и средняя погрешность установлены путем статистических вычислений, касающихся изучавшихся животных и групп животных, показаны в таблице № 2.

Рис. 1

Из статистического анализа определений диаметра мышечных волокон следует, что в контрольной группе средняя величина равняется 39,81 микрона, тогда как в группе, которой вводились эстрогенные вещества, эта величина снижается до 33,64 микрона.

Средняя величина диаметра мышечного волокна у группы животных, подвергнутых хирургической кастрации, приближается к контрольной группе и была определена нами равной 37,25 микрона.

Разница между средними по группе величинами диаметра изучавшихся мышечных волокон была установлена на основании статистического анализа и изучения полученных определений.

Разница между контрольной группой и группой, которой вводились синтетические эстрогенные вещества, является *весьма значимой* ($p < 0{,}01$). Степень значимости разницы между средними величинами, определенными для контрольной группы и для группы животных, подвергнутых хирургической кастрации, меньше, причем эта разница является просто *значимой* ($p < 0{,}005$). *Эмпирическое значение* величины t несколько больше, чем t-теоретическое по таблицам Фишера (2,154 против 2,145), причем эта ничтожная разница в пользу первой величины приводит полученное отклонение в сферу незначимых разниц. Если учесть несоответствие между средним весом животных, составляющих эти две группы, где средний вес в группе животных, подвергнутых хирургическому кастрированию на много выше среднего веса животных контрольной группы и, принимая во внимание то обстоятельство, что между весом тела и диаметром мышечных волокон существует прямая корреляция, то эта разница явится намного более значимой.

Кривые полученных величин у изучавшихся животных, разделенных на группы и выраженных в процентах, показаны на рис. 2.

Таблица № 2

Результат измерений (в микронах)

Контрольная группа		II группа, с введением эстрогенных веществ		III группа, кастрированная хирургическим путем	
№ по матрикулу	средний диаметр мышечного волокна	№ по матрикулу	средний диаметр мышечного волокна	№ по матрикулу	средний диаметр мышечного волокна
1	41,56	11	36,21	21	35,83
2	41,58	12	33,77	22	40,67
3	41,01	13	33,80	23	42,62
4	38,46	14	32,45	24	34,62
5	37,94	15	33,25	25	35,07
6	39,21	16	36,42	26	35,55
7	39,30	17	31,32	27	38,80
8	39,41	18	33,65	28	34,82
		19	34,80		
		20	30,75		
Средняя	39,81		33,64		37,25
Дисперсность	1,962		3,447		9,345
Стандартное отклонение	1,401		1,856		3,057
Средняя погрешность	0,495		0,587		1,081

Химический состав мышцы psoas major и процентное содержание составляющих элементов по отношению к общему количеству сухого вещества, показаны в таблице № 3.

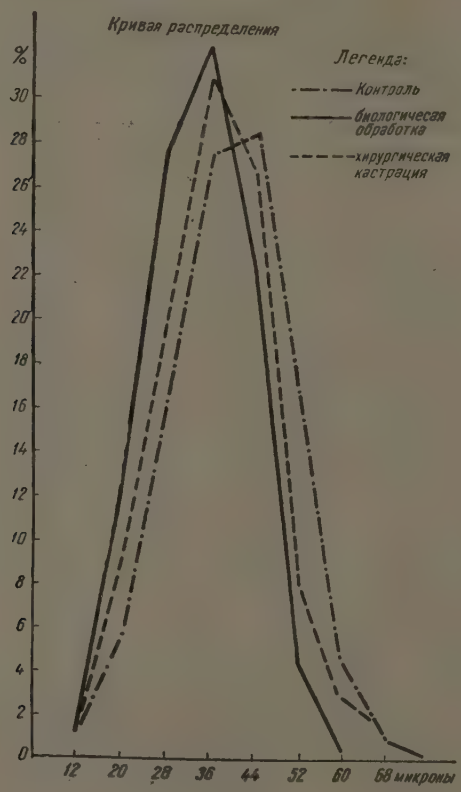


Рис. 2

Анализ химического состава показывает, что наибольшее содержание сухого вещества в мышце psoas major оказалось в группе с хирургической кастрацией, где был установлен и наивысший процент жира в 14,57%, по сравнению с 12,82% и с 13,45%.

Содержание белков и минеральных веществ имеет сходное значение у всех трех групп, причем наименьший процент белковых веществ был в группе с хирургической кастрацией (80,66%), а наибольший (82,51%) — в контрольной группе.

Таблица № 3

Химический анализ мышцы psoas major в процентах

Группа	Химический состав			
	сухое вещество	жиры	белки	зольные вещества
Контрольная (I) группа	25,28	3,24	20,86	1,18
	100	12,82	82,51	4,67
Группа II с введением эстрогенных веществ	25,42	3,42	20,79	1,21
	100	13,45	81,80	4,75
Группа III с хирургической кастрацией	26,07	3,80	21,03	1,24
	100	14,57	80,66	4,77

ТОЛКОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Подкожное введение синтетических эстрогенных веществ растущим животным ведет к функциональному расстройству, вызывающему отсутствие аппетита, состояние возбуждения, явное проявление полового влечения и задержку телесного развития.

Следствием введения эстрогенных веществ и, в особенности, следствием хирургической кастрации, является нарастание изменчивости среднего индивидуального диаметра поперечно-полосатых мышечных волокон, хотя абсолютная изменчивость этого диаметра ограничивается соответствующей группой. Это явление возможно было бы приписать индивидуальным особенностям, которые обусловливают различную количественную реакцию по отношению к данному эксперименту. Данное нами объяснение вытекает из анализа различных результатов опыта или, точнее, из анализа коэффициентов вариаций, величина которых была следующей: 3,52% у контрольной группы; 5,52% у группы, которой вводились эстрогенные вещества и 8,21% у группы с хирургической кастрацией.

Распределение величин по кривым распределения (показанных на рис. 2) трех рассматриваемых групп показывает их более явное смещение в сторону меньших величин у группы с введением эстрогенных веществ и меньшее у группы с хирургической кастрацией по сравнению с контрольной группой. Ввиду того, что влияние фактора веса тела исключается (так как его величина у контрольной группы и у группы, которой вводились эстрогенные вещества, почти одинакова), следует, что полученные результаты различны в связи с различными методами экспериментирования, применявшихся для животных группы с введением эстрогенных веществ и группы с хирургической кастрацией.

Из рассмотрения кривых распределения следует также меньшая вариация диаметра мышечных волокон взятых вместе, независимо от группы животного, которому они принадлежали. Этот факт вытекает и из оценки стандартного отклонения, которое у группы с введением эстрогенных веществ равняется 8,13 микронам, а у группы с хирургической кастрацией — 9,93 микронам, по сравнению с 10,18 микронами в контрольной группе. Отнесение отклонения к средним по группам, которые не являются различными, дают сравнительно близкие коэффициенты вариации, соответственно равные: 24,16%; 26,66% и 25,57%.

Вид кривой распределения у группы, которой вводились эстрогенные вещества, такой же, как и кривой контрольной группы, что приводит к заключению, что синтетические эстрогенные вещества обусловили задержку роста, не давая возможности развития в особенности плюсвариантов, величины которых стремятся занять центральное положение в кривой распределения. Вид кривой распределения группы с хирургической кастрацией, однако, другой, так как влияние кастрации на диаметр мышечного волокна оказалось более сложным и постоянным.

Явно значимая разница ($p < 0,01$) между группой с введением эстрогенных веществ и группой, подвергнутой хирургической кастрации, статистически подтверждает неодинаковость примененных методов и существование двух явно различных процессов, причем, в одном случае, имеется торможение гормонов аденогипофиза, а в другом, стимуляция их выделения, дополненная влиянием на половые железы.

Химический анализ мышцы psoas major показывает некоторые неявные изменения между группами, причем колебания не превышают нормальных пределов, что показывает, что синтетические эстрогенные вещества и хирургическая кастрация мало влияют на химический состав поперечно-полосатых мышечных волокон, причем группа с введением эстрогенных веществ занимает промежуточное положение между контрольной группой и группой, подвергнутой хирургической кастрации.

ВЫВОДЫ

1. Средний диаметр волокон мышцы psoas major у свиней крупной белой породы в 9 месячном возрасте равняется 39,81 ± 0,5 μ.

2. Синтетические вещества эстрогенного действия, вводимые парентерально свиньям, вызывают задержку развития поперечно-полосатой мышечной ткани, причем у растущих организмов гипертрофия мышечных волокон замедляется.

Подкожное введение синтетического эстрогенного препарата, каким является препарат Стильбена, в дозе 60 мг самкам свиней 5-месячного возраста препятствовало нормальному развитию диаметра поперечно-полосатых мышечных волокон, причем у мышц psoas major

9-месячных животных его величина равнялась 84,5% величины диаметра мышечных волокон у контрольной группы.

Эффект нарушения секреции эндокринных желез, путем введения эстрогенных веществ во время роста и развития организма, сохраняется в течение продолжительного времени.

3. Хирургическая кастрация, производимая во время роста в 5-месячном возрасте, вызывает слабое замедление ритма увеличения диаметра поперечно-полосатых мышечных волокон. В 9-месячном возрасте средний диаметр волокон мышцы psoas major животных, подвергнутых хирургической кастрации, равнялся 93,6% диаметра волокон животных контрольной группы.

4. Синтетические препараты эстрогенного действия, вводимые растущим свиньям, весьма мало влияют на химический состав поперечно-полосатых мышечных волокон.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dinu M., Păduraru I., *Suprimarea fazei oestrale prin oestrogeni de sinteză.* Stud. şi cerc. biol. Seria biol. anim., XII, 1960, *1.*
2. Глебина Е. И., *Изменения мышечной ткани свиней при межпородном скрещивании,* ДАН СССР, т. **LXXXII**, 1952, **2**, *309.*
3. Griffiths M., F. G. Young, *The assay of hypophyseal growth-promoting extracts employing rats treated with diethylstilboestrol.* J. Endocrin., 1942, **39**, *69.*
4. Gurău L., Derlogea, V. *Cercetări asupra fibrelor musculare la porcul romînesc de carne comparativ cu Marele Alb.* Lucr. şt. Inst. cerc. zoot., 1959, **17**.
5. Hooker C. W., Pfeifer, C. A. *Effects of sex hormones upon body growth, skin, hair and sebaceous glands in the rat.* Endocrinology, 1943, **32**, *69.*
6. Iordănescu I., Popovici F., Pălămaru V., *Date preliminare asupra vîrstei optime pentru montă la scroafe,* Probl. zoot. şi veter., 1959, *7.*
7. Joubert D. M., *Wachstum der Muskelfaser vor und nach der Geburt.* Z. f. Tierzucht u. Züchtungsbiol., 1956, **67**, *4.*
8. Kurbs R., *Noch einige Bemerkungen zur Muskelfaserdicke bei Schweinen.* Tierzucht, 1957, *9.*
9. Neseni R., *Bemerkungen zu: Objektive Qualitätsbestimmungen des Fleisches bei verschiedenen schweren Cornwall- und Sattelschweinen.* Tierzucht, 1957, *4.*
10. Otel V., Boian S., *Cercetări asupra efectului hexoestrolului diacetat în suprimarea funcţiei sexuale la cocoşei.* Probl. zoot. şi vet., 1958, *7.*
11. Otel V., Lunca N., Brătescu I., Bica M., Slăvescu E., Popovici P., *Suprimarea căldurilor la scroafe cu ajutorul hexoestrolului diacetat.* Probl. zoot. şi vet., 1958, *1.*
12. Perrault M., *Mode d'action des œstrogènes,* из Colloque sur les aliments dits „supplémentés" — R. Ferrando. Rec. Méd. Vét., 1957, **133**, *11.*
13. Reece R. P., Leonhard S. L., *Further evidence for a mammogenic factor in the rat hypophysis.* Proc. Soc. exp. Biol. Med. 42,200, 1939, 42.
14. Schmidt K., Bertschneider W., *Despre evoluţia simptomelor exterioare ale ciclului sexual la scroafe* (румынский перевод из Tierzucht, 1954, *4*).
15. Silberberg M., Silberberg R., *Effects of endocrines on age changes in the epiphyseal and articular cartilages.* Endocrinology, 1942, **31**, *410.*
16. Simpson M. E., Kibrick E. A., Becks H., Evans H. M., *Effect of crystalline œstrin implants on the proximal tibia and costochondral junction of young female rats.* Endocrinology, 1942, **30**, *286.*
17. Visscher M., Beckers C., *La glande thyroïde et l'équilibre endocrinien.* J. de Physiologie, 1957, **49**, *2.*

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE WOOD WASPS *(HYMENOPTERA, SIRICIDAE)* OF THE RUMANIAN PEOPLE'S REPUBLIC FAUNA

BY

ANA PRECUPEȚU and ȘT. NEGRU

In this paper, a list is presented of all the forms of *Hymenoptera, Siricidae* recorded so far in the Rumanian People's Republic territory.

Besides the short characterization of these insects, pertaining to 5 genera and 11 species, data concerning their biology, ecology, spreading and economic importance are also given.

For many species new locations in the Rumanian People's Republic are mentioned. Two species, new to the Rumanian People's Republic fauna, are quoted.

The material presented belongs to the author's private collection and was gathered between 1946 and 1958 in various regions of Rumania.

★

Hereafter, the list of wood wasp species, mentioned in the Rumanian People's Republic territory, is given, according to the material so far collected [1].

---

[1] J. Frivaldszky (1876), V. Ionescu (1954), M. Jaquet (1900), G. Mayr (1853), Al. Mócsáry (1874, 1877, 1879, 1884, 1900, 1918), L. Móczár (1947), M. Móczár and P. Henter (1907), A. Müller (1922 and 1929—1930), Șt. Negru (1957), G. Strobl (1901), Z. Szilády (1914) and Zilahi Kiss Endre (1904 and 1915), have also written and published data collected in the Rumanian People's Republic concerning the *Hymenoptera, Symphyta.*

Fam. SIRICIDAE Rohwer, 1911

A. Subfam. XIPHYDRINAE Ashmead, 1898

I. Gen. **Xiphydria** Latreille, 1802

1. **X. camelus** (Linné), 1758[1]
2. **X. picta** Konow, 1897[2]
3. **X. prolongata** (Geoffroy), 1785
4. **X. longicollis** (Geoffroy), 1785

B. Subfam. SIRICINAE Rohwer, 1911 (sub *Sirecinae*)

II. Gen. **Tremex** Jurine, 1907

5. **T. fuscicornis** (Fabricius), 1787
6. **T. magus** (Fabricius), 1787 and the var. *alchymista* (Mocsáry), 1886

III. Gen **Xeris** A. Costa, 1894

7. **X. spectrum** (Linné), 1758

IV. Gen. **Sirex** Linné, 1758

8. **S. juvencus** (Linné), 1758
9. **S. noctilio** Fabricius, 1793

V. Gen. **Urocerus** Geoffroy, 1762

10. **U. gigas** (Linné), 1758
11. **U. augur** (Klug), 1803

★

[1] New species for the Rumanian People's Republic territory.
[2] Idem.

1. **Xiphydria camelus** (Linné), 1758

Syst. Nat., ed. 10, vol. 1, p. 560 (sub *Ichneumon*)

Distinctive characters. Body with white spots. Second antenna joint shorter than half of the third, and shorter than the fourth. On each of the abdominal rings IV—VI, laterally, a pair of white spots.

Body length : ♂ 8—15 mm, ♀ 11—21 mm.

Biology. X. camelus (Linné) develops in *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (black alder) wood and *Alnus incana* (L.) Mönch. (white alder) wood (according to Konow, quoted by L. Berland [3]), sometimes also in *Betula* sp. wood (according to Enslin and Frauenfeld, quoted by L. Berland [3]). According to A. I. Ilinski [10], the adult larva is 25 mm long.

Spreading. This species is spread in Europe, Siberia, Sakhalin and Kamtchatka.

New for the Rumanian People's Republic fauna

The following material is found in the author's collection :

1. ♀ netted on the wing, in the forest of Şandru, Cîmpulung-Moldovenesc, on August, 1, 1951 (N.)[1]; 1 ♀ found in birch wood in Cîmpulung-Moldovenesc, on August, 4, 1951 (N.); 4 ♀ ♀ netted at Comana, Bucharest Region, on May 19, 1955 (P.)[2]; 1 ♀ caught at Voineşti, Târgovişte district, Ploieşti Region, on May 24, 1955 (P.); 2 ♀♀ netted at Măgura-Sibiu, Braşov Region, on June, 9, 1955 (P.) (pl. IV, fig. 12).

2. **Xiphydria picta** Konow, 1897

Ent. Machr., vol. 23, p. 301, 304, 310 ♂ ♀

Distinctive characters. The yellow spots on the head, considerably developed. At the basis of each antenna, above each, a small yellow round spot, and often, one (or two) similar ones between the antennae. On the mezonote there are, laterally, two similar small spots. The abdomen shows laterally 6—7 such spots on each side. In males, the spots between the antennae unite forming a larger spot, black in its median part.

Body length : ♂ 10—14 mm, ♀ 14—22 mm.

Biology. X. picta Konow develops in *Alnus* sp. wood.

Spreading. This species is spread in Europe, Siberia and in Transcaucasia.

New for the Rumanian People's Republic fauna.

---

[1] (N.) = leg. et det. Şt. Negru.

[2] (P.) = leg. et det. Ana Precupeţu.

The following material is found in the author's collection :

1 ♂ found in alder wood, in Bucharest, on October 24, 1948 (N.); 2 ♂ ♂ found in birch wood, at Cîmpulung-Moldovenesc, on July 9, 1951 (N.); 1 ♂ found on January 24, 1955 in white alder wood, brought from the valley of Latorița on October, 16, 1954 (N.); 2 ♀♀ obtained in laboratory on August 10, 1956 from Cernica birch wood (P.); 12 ♂ ♂ and 5 ♀ ♀ found between May 4, and July 9, 1957 in white alder wood, brought from the Aninișu Reservation — Cumpătu — Sinaia (N.) (pl. IV, fig. 13).

3. **Xiphydria prolongata** (Geoffroy), 1785

In Fourcroy, Ent., Paris, vol. 2, p. 379 (sub *Tenthredo*)

Distinctive characters. Head and thorax with white spots. Coxes black, tibias white at the base, rest of leg reddish. Abdominal tergites III—VIII, reddish. In the male, abdominal sternites V and VI with a brush of reddish-brown, short and thick hair.

Body length : ♂ 7—13 mm, ♀ 10—18 mm.

Biology. X. prolongata (Geoffroy) develops in *Salix alba* L. (white willow) wood, *Populus tremula* L. (aspen) wood and *Ulmus foliacea* Gilib. (field elm) wood (according to Konow, quoted by L. Berland [3]) and *Populus nigra* L. (black poplar) wood. It has also been found in *Platanus* sp. (plane tree) wood (according to Chobaut, quoted by L. Berland [3]).

According to A. I. Ilinski [10], the adult larva 25 mm long.

Spreading. This species is spread in Europe and Siberia.

In the Rumanian People's Republic it is known in Oradea, at Piele, Tășnad district, Maramureș Region, and in Reșița, Banat Region, (according to Al. Mocsáry [11]).

The following material is found in the author's collection :

1 ♂ and 1 ♀ found in *Salix* sp. (willow) wood, brought from Pîrtești, Gura-Humorului district, Suceava Region, on November 22, 1950 (N.); 1 ♀ found in willow wood in Cîmpulung-Moldovenesc (Suceava Region) on April 10, 1951, together with specimens of *Sinodendron cylindricum* L. (*Coleoptera, Lucanidae*) wood (N.); 3 ♂ ♂ and 1 ♀ found in willow wood, brought, from Galați on August 23, 1953 (N.); 1 ♀ found in willow wood, brought from the forest of Cernica, Bucharest Region, on March 28, 1957 (P.) (pl. III, fig. 8 and 9).

4. **Xiphydria longicollis** (Geoffroy), 1785

In Fourcroy, Ent., Paris, vol. 2, p. 378 (sub *Tenthredo*)

Distinctive characters. The spots on the body yellow. Second antenna joint a little shorter than third and longer than fourth. The male shows on each of the IV—VI abdominal sternites, a brush of yellow hair.

Body length: ♂ 7—16 mm, ♀ 12—22 mm.

Biology X. longicollis (Geoffroy) develops in the *Betula alba* L. (white birch) wood (according to Konow, quoted by L. Berland [3]), but also in *Quercus* sp. (oaks), *Acer* sp. and *Pirus comunis* L. (pear tree) wood (according to Enslin, quoted by L. Berland [3]).

Spreading. This species is spread in Europe.

In the Rumanian People's Republic it has been collected by Al. Mocsáry [11] in Tăşnad, Maramureş Region.

The following material is found in the author's collection:

9 ♂♂ and 8 ♀♀ found in oak wood, brought from the forest of Barboşi-Ghermăneşti, Bucharest Region, on September 27, 1947 (N.); 2 ♂♂ and 2 ♀♀ found in oak wood, brought from the forest of Băneasa Bucharest, on June 3, 1949 (N.); 1 ♂ and 7 ♀♀, found in oak wood brought from the forest of Vlădiceasca, Bucharest Region, on August 22, 1949 (N.); 3 ♂♂ and 1 ♀ found in oak wood, brought from Lucieni, Tîrgovişte district, Ploieşti Region, on July 18—20, 1950; 2 ♂♂ and 1 ♀ found in oak wood in Mamaia, Dobrogea Region, on July 21, 1951 (N.); 1 ♂ and 1 ♀ found in oak wood, brought from the forest of Maxenu — Buzău, Ploieşti Region, on September 1, 1955 (N.); 1 ♀ collected on an oak trunk in the forest of Lapiş-Nuşfalău, Şimlău district, Crişana Region, on October 23, 1955 (N.); 1 ♀ found in oak wood, in Băileşti, Oltenia Region, on April 10, 1956 (N.); 3 ♀♀ netted in Comana, Bucharest Region, on June 12, 1956 (P.) (pl. III, fig 10 and 11).

5. **Tremex fuscicornis** (Fabricius), 1787

Mant. Inst., vol. 1, p. 257, ♀ (sub *Sirex*); Villers, 1789, Linn. Ent., vol. 3, p. 132, ♂ (sub *Sirex strutiocamelus*)

Distinctive characters. ♀ body and the wings are mostly rusty-yellow. The abdomen dull, with transverse dark brown or black stripes. The male's body is completely black, reddish in some places (temples, abdominal sternites and tergites). The antennae, reddish at their base, in the rest black.

Body length: ♂ 15—30 mm, ♀ 16—40 mm.

Biology. T. fuscicornis (Fabricius) develops in *Fagus silvatica* L. (beech) wood (according to Konow, quoted by L. Berland [3]), black poplar and aspen wood (according to Cameron, quoted by L. Berland [3]), birch (according to Enslin, quoted by L. Berland [3]), willow and oak wood (according to L. V. Arnoldi [1] and A. I. Ilinski [10]).

Spreading. This species is spread in Europe, Siberia, China, Korea and Japan.

In the Rumanian People's Republic it is known in Oradea, at Pir, Tăşnad district, Maramureş Region (according to Al. Mocsáry [11]) and at Chiriţa, Iaşi Region, (according to V. Ionescu, 1954).

The following material is found in the author's collection:

1 ♀ collected on a willow trunk at Gura Latoriței, Rm. Vîlcea district, Argeș Region, on October 18, 1954 (N.); 1 ♀, found in a willow trunk at Comana, Bucharest Region, on July 10, 1955 (N.); 3 ♀♀ found in an *Acer negundo* L. trunk (American maple tree) at Valea Răcădău-Brașov, on August, 1955 (N.); 1 ♀ netted at Borșa-Baia, Vișău district, Maramureș Region, on October 8, 1956 (P.); 1 ♀ netted at Făgetul Clujului, Cluj Region, on June 17, 1957 (P.) (pl. IV, fig. 14).

6. **Tremex magus** (Fabricius), 1787

Mant. Ins., vol. 1, p. 257, ♀ (sub *Sirex*); Fabricius, 1787, Mant. Inst., vol. 1, p. 258, ♂ (sub *Sirex nigrita*)

Distinctive characters. The body black (the ♀ abdomen with metallic reflexes). The antennae, from the third joint, flattened laterally. The abdomen, legs and tips of antennae in the female, spotted white. The wings partially smoke-coloured (or totally, in the *alchymista* var. (Mocsáry), 1883, Rovart. Lapok, vol. 3, p. 73, XII, ♀).

Body length: ♂ 12—25 mm, ♀ 15—35 mm.

Biology. T. magus (Fabricius) develops in beech wood (according to Hartig), oak wood (according to Graft) and *Acer campestre* L. (common maple) wood (according to Wachtl); to these species are added the birch and the pear tree (according to Enslin, Bata and Gregor, Escherich, Berland and Popov), as well as the *Carpinus* sp. (hornbeam).

The adult larva is 18—28 mm long (Șt. Negru [12]), up to 30 mm (A. I. Ilinski [10]) and even 35 mm (V. I. Gusev and M. N. Rimski-Korsakov [8]). Width of cephalic capsula (in the last larval stage), is of 3—5 mm (Șt. Negru [12]).

Spreading. This species is spread in Europe.

In the Rumanian People's Republic it is known in the forest of Barboși-Ghermănești (Bucharest Region) (according to Șt. Negru [12]).

The following material is found in the author's collection:

148 ♂♂ and 235 ♀♀ found between April 26, and May 4, 1950 in *Quercus cerris* L. (cerris) wood, brought from the forest of Barboși-Ghermănești, Bucharest Region, between March 31, and April 6, 1950 (N.); 3 ♀♀ *alchymista* var. (Mocsáry) netted at Comana, Bucharest Region, on June 15, 1955 (P.) (pl. I. II, IV, fig. 15).

7. **Xeris spectrum** (Linné), 1758

Syst. Nat., ed. 10, vol. 1, p. 560 (sub *Ichneumon*)

Distinctive characters. The body, black; laterally a light yellow spot at the posterior angle of the head, and a stripe of the same colour on each side of the pronotum. The legs are partially reddish-yellow. The ovodepositor of the female is as long as the body.

Body length: ♂ 12 mm, ♀♀ 15—30 mm.

Biology. X. spectrum (Linné) develops in *Pinus silvestris* L. (silvestral pine) wood, *Picea excelsa* (Lam.) Link. (spruce fir) wood and *Abies alba* Mill. (fir) wood (according to L. Berland [3]).

Spreading. This species is spread in Europe, northern Africa, Siberia, Sakhalin and the U.S.A.

In the Rumanian People's Republic it is known in the Rodna Mountains (according to Z. Szilády, 1914), Transylvania (according to A. Müller, 1922) and Panaci, Vatra Dornei district, Suceava Region (according to V. Ionescu, 1954).

The following material is found in the author's collection :

1 ♂ found in fir wood from the forest of Şandru, Cîmpulung-Moldovenesc on July 14, 1951 (N.); 1 ♀ netted in Sinaia on September 15, 1955 (P.); 1 ♀ netted on sun-lit resinous beams at Bran (Braşov, Region), on June 28, 1954 (N.); 1 ♀ netted in the Ceahlău mountains, on September, 12, 1955, in the alpine zone (P.); 1 ♀ netted at Baia Borşa on August 17, 1954 (P.); 1 ♀ netted in Arad, Banat Region, 1956 (P.) (pl. V, fig. 16).

8. **Sirex juvencus** (Linné), 1785

Syst. Nat., ed. 10, vol. 1, p. 560, ♀ (sub *Ichneumon*); Acerbi (1802), Trav. Sweden, vol. 2, p. 253, t. 1, fasc. 1 ♂ (non Fabricius 1781 sub *nigriconis*)

Distinctive characters. Body totaly black with bluish-purple metallic reflexes (♀) or abdomen mainly reddish, except the first two rings and its extremity which are black (♂). The basis of the antennae reddish-yellow.

Body length : ♂ 12—28 mm, ♀ 15—30 mm.

Biology. S. juvencus (Linné) develops in pine, spruce, fir and fir wood (according to J. Głowacki [7]) and larch wood (according to L. V. Arnoldi [1]).

Spreading. This species is spread in Europe, Siberia, Sakhalin, the Philippine Islands, Japan, Australia and North America.

In the Rumanian People's Republic it is known at Borsec, Toplița district, Mureș-Autonomous Magyar Region, Tuşnad, Ciuc district, Mureș-Autonomous Magyar Region, and the Retezatu Mountains (according to Al. Mocsáry [11]), Zalău, Cluj Region, (according to Zilahi, Kiss Endre, 1904) and Oradea (according to Z. Szilády, 1914).

The following material is found in the author's collection :

1 ♀ found in fir wood in Bucharest, on February 20, 1950 (N.); 1 ♂ and 1 ♀, found on April 22, 1952, in fir material, collected on December 10, 1951, in Cîmpulung-Moldovenesc (N.); 1 ♀ netted in Sibiu, on July 7, 1957 (P.); 1 ♀ netted in Borsec, on June 8, 1953 (P.); 1 ♀ netted in Borşa-Baia, on October 7, 1956 (P.); 2 ♂♂ and 2 ♀♀, found on May 10, 1959 in resinous rolls (P.) (pl. V, fig. 17) at Buhuşi, Bacău Region.

9. Sirex noctilio Fabricius, 1793

Ent. Syst., vol. 2, p. 130, ♂; Klug 1803, Monogr. Siric., p. 36, t. 3, fasc. 4, 5; t. 4, fasc. 1, 2, ♂ ♀ (non Linné 1758) (sub *juvencus*)

Distinctive caracters: Completely black antennae. In the rest they are similar to *S. juvencus* (L.).

Body length: ♂ 10—30 mm, ♀ 18—30 mm.

Biology. S. noctilio Fabricius develops in spruce fir wood.

Spreading: This species is spread in Europe, Siberia, New-Zealand and Mongolia.

In the Rumanian People's Republic it is known in Oradea (according to Z. Szilády, 1914).

10. Urocerus gigas (Linné), 1758

Syst. Nat., ed. 10, vol. 1, p. 560 (sub *Ichneumon*)

Distinctive characters. Head black, with two well outlined yellow spots behind the eyes. The thorax nearly always black. The abdomen yellow with the basis of ring I and rings III—VI, black (♀) or totally yellow, except its basis and its extremity which are blackish-brown.

Body length: ♂ 10—30 mm, ♀ 12—40 mm.

Biology. U. gigas (Linné) develops in pine, spruce fir, fir, larch wood, poplar and ash (*Fraxinus* sp.) wood (according to L. Berland [3]). The quotation in the last two hosts should be verified (according to A. I. Ilinski [10]).

Spreading. This species is spread in Europe, North Africa (Algeria, Egypt), Siberia, Central Asia, Japan and the U.S.A.

In the Rumanian People's Republic it is more widely spread than the other species of the genus.

The following material is found in the collection of the Biological Institute "Tr. Săvulescu" of the Academy of the Rumanian People's Republic:

1 ♂ netted in Roznov, on July 20, 1952 (N.); 2 ♀♀ collected on a spruce fir stump, in the forest of Pîrîul Prelunci-Tazlău, Buhuși district, Bacău Region, on July 28, 1950 (N.); 2 ♀♀ netted in Peștera Ialomicioarei — Bucegi, on June 17, 1952 (P.); 2 ♀♀ and 2 ♂♂ found in Bucharest in spruce fir wood, on April 26, 1956 (P.); 2 ♀♀ collected on a fir stump, in the forest of Cumpătu-Sinaia, on July 3, 1954 (N.) (pl. V, fig. 18, 19 and 20).

11. Urocerus augur (Klug), 1803

Monogr., Siric., p. 34, t. 3, fasc. 1, 2; t. 4, fasc. 4 (sub *Sirex*)

Distinctive characters. Hind part of head reddish-yellow. Thorax, black with pronotum and other small portions, reddish. Abdomen, yellow, with rings III—VII partially or totally black (♀), or totally yellow, except ring VIII which is black (♂).

Fig. 1. — *Tremex magus* (Fabricius) *alchymista* var. Mocsáry, male (magnified 2.58 ×). Original.

Fig. 2. — *Tremex magus* (Fabricius) *alchymista* var. Mocsáry, female (magnified 1.65 ×). Original.

Fig. 3. — *Tremex magus* (Fabricius) ♂♀ copulated (magnified 2.35 ×). Original.

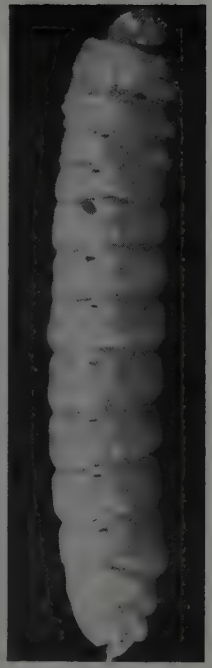


Fig. 4. — *Tremex magus* (Fabricius), larva seen in profile (magnified 3.75 ×). Original.

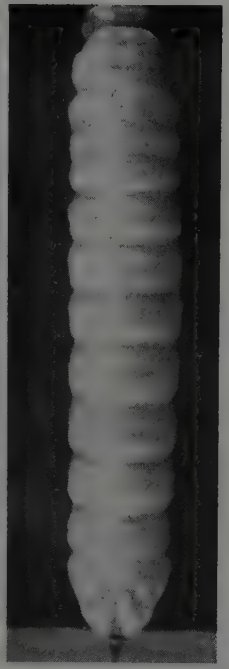


Fig. 5. — *Tremex magus* (Fabricius), larva seen dorsally (magnified 3.75 ×). Original.

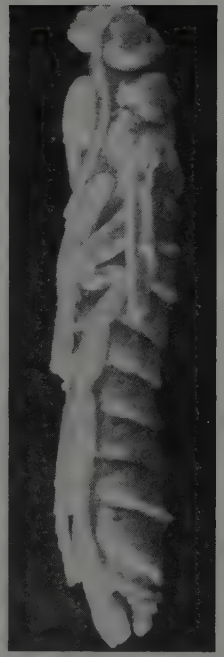


Fig. 6. — Male pupa of *Tremex magus* (Fabricius), seen in profile (magnified 4.2 ×). Original.

Fig. 7. — Female pupa of *Tremex magus* (Fabricius), seen in profile (magnified 3.1 ×). Original.

PLATE II

Fig. 8. — Damages caused by *Xiphydria prolongata* (Geoffroy); barked willow trunk with issue holes of adults (the arrow shows peckings made by woodpeckers). Original.

Fig. 9. — Willow trunk split in order to show the galeries of the *Xiphydria prolongata* (Geoffroy), larva. Original.

Fig. 10. — Damages caused by *Xiphydria longicollis* (Geoffroy); parts of an oak trunk, split lengthwise in order to show the galeries of the larva. Original.

Fig. 11. — Parts of a barked oak trunk with issue holes made by *Xiphydria longicollis* (Geoffroy), adults (the transverse winding galeries are made by the *Agrilus* sp. (Coleoptera *Buprestidae*) larvae. Original.

PLATE IV

Fig. 12. — Birch trunk with issue holes of *Xiphydria camelus* (Linné) adults. Original.

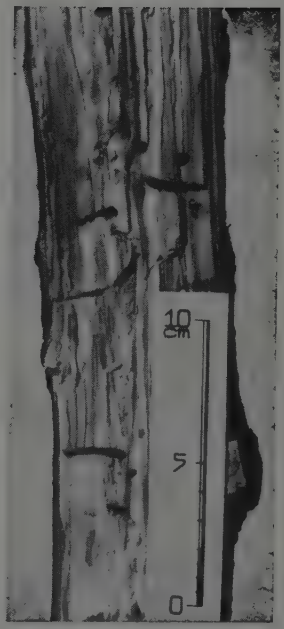


Fig. 13. — Part of a white alder trunk, split lengthwise in order to show the galeries made by the *Xiphydria picta* Konow larva. Original.

PLATE IV (continuation)

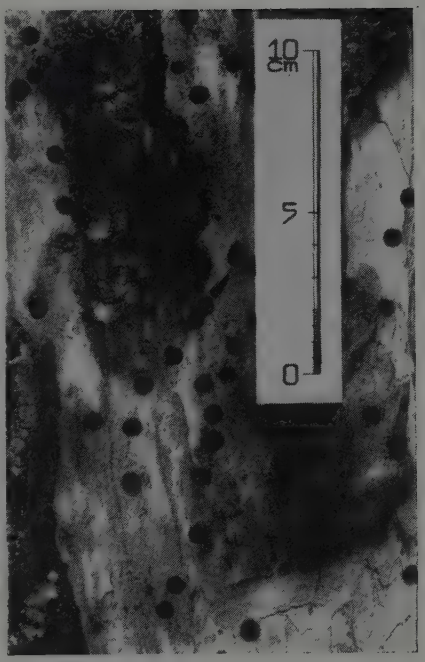


Fig. 14. — Part of an American maple trunk with issue holes made by *Tremex fuscicornis* (Fabricius). Original.

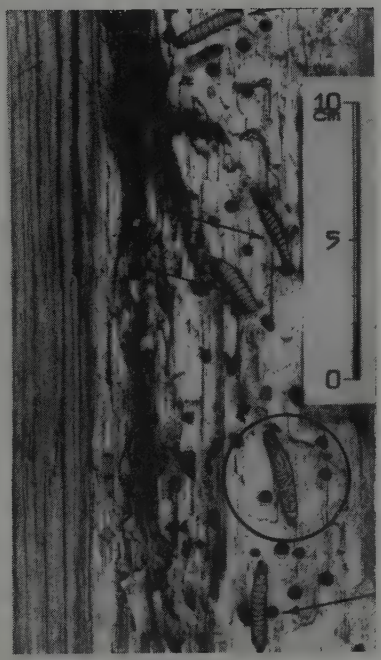


Fig. 15. — Part of a cerris trunk damaged by *Tremex magus* (Fabricius), split lengthwise in order to show the galeries made by the larvae and the pupation nests (in circle, a female pupa ; the arrows show larvae in the galeries). Original.

Fig. 16. — Part of a fir trunk split in order to show the galeries of the *Xeris spectrum* (Linné) larvae. Original.

Fig. 17. — Part of a fir trunk with galeries made by the *Sirex juvencus* (Linné) larva. Original.

Fig. 18. — Galeries made by the *Urocerus gigas* (Linné) larva, in a spruce fir trunk. Original.

PLATE V (continuation)

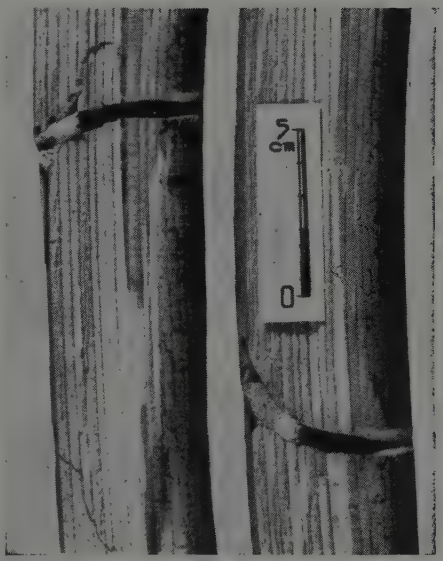


Fig. 19. — Two pupation nests from which adults of *Urocerus gigas* (Linné) have issued. Original.

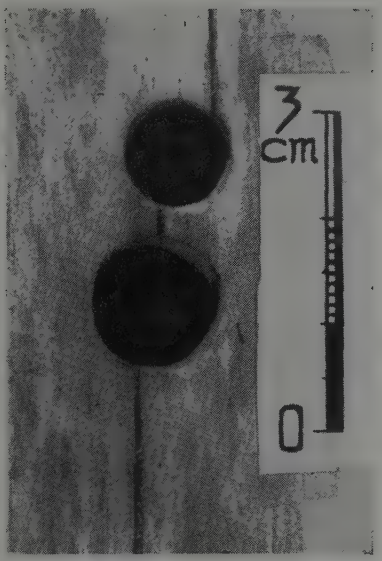


Fig. 20. — Issue holes of unusual size made by the adults of the *Urocerus gigas* (Linné) species. Original.

Body length: ♂ 17—20 mm, ♀ 18—40 mm.

Biology. U. augur (Klug) develops in poplar wood (according to Fabre, quoted by L. Berland [3] and L. V. Arnoldi [1]), but also in *Juniperus* sp. (juniper) wood (according to Xambeu, quoted by L. Berland [3]), or in resinous wood (according to K. Escherich [6]).

Spreading. This species is spread in Europe and North Africa.

In the Rumanian People's Republic it is known in Panaci, Suceava Region (according to V. Ionescu, 1954).

The following material is found in the author's collection:

1 ♀ netted on a fir stump, in the Cumpătu-Sinaia forest, on August 8, 1958 (N.).

REFERENCES

1. Арнольди Л. В., Желоховцев А. Н., Никольская М. Н., Попов В. В. и сотрудники, *Вредители леса* (*Справочник*). Зоол. Инст. Акад. Наук СССР, Москва-Ленинград, 1955, том I и II.
2. Barbey A., *Traité d'Entomologie forestière.* Paris-Nancy, 1913.
3. Berland L., *Faune de France*, 47. *Hym. Tenth.* Paris, 1947.
4. Bureş I. i Lazarov As., *Vrednite nasekomi za selskoto i gorskoto stopanstvo i Blgaria.* Blg. Akad. na Naukite Trudove na Zool. Instit., Sofia, 1956, 5.
5. Enslin E., *Die Blatt- und Holzwespen. Die Insekten Mitteleuropas insbesondere Deutschlands*, Stuttgart, 1914.
6. Escherich K., *Die Forstinsekten Mitteleuropas*, Vol. V, No. 2, Berlin, 1941.
7. Głowacki J., *Klucze do oznaczania owadów polski.* Polski Zwiazek Entom., 1956, vol. XXIV, No. 2—3.
8. Гусев В. И. и Римский-Корсаков М. Н., *Определитель повреждений лесных и декоративных деревьев и кустарников европейской части СССР.* Москва-Ленинград, 1951.
9. Hedicke H., *Hymenopterorum Catalogus. Xiphydriidae. Siricidae.* 'S Gravenhage, 1938.
10. Илинский А. И., *Определитель яйцекладок личинок и куколок насекомых, вредных в лесном хозяйстве.* Москва-Ленинград, 1948.
11. Mocsáry Al., *Ordo Hymenoptera*, in *Fauna Regni Hungariae.* Budapest, 1900.
12. Negru Ş.T., *Contribuţii la biologia viespii de lemn Tremex magus F. (Hym. Siricidae).* Bul. ştiinţ. Acad. R.P.R., Secţia de biologie şi ştiinţe agricole (seria zoologie), 1957, **9**, *2*.
13. Schimitschek E., *Die Bestimmung von Insektenschäden im Walde nach Schadensbild und Schädling.* Hamburg-Berlin, 1955.

LE CHÊTOME DES LARVES D'IXODIDÉS, CRITÈRE NOUVEAU DE CLASSIFICATION PHYLOGÉNIQUE

PAR

Z. FEIDER et I. MIRONESCU

Aux fins de grouper les Ixodidés en unités supérieures au genre, les divers auteurs se sont servis de différents critères de classification, tenant compte, dans la plupart des cas, de la morphologie extérieure du corps et, rarement, des caractères chêtotaxiques.

Prenant pour critère la longueur du rostre, K. L. Koch, le premier à avoir classifié les Ixodidés (1844—1847), les répartit entre deux familles : 1. *Ixodidae* (genres *Hyalomma*, *Haemalestor* et *Amblyomma*), au rostre long, et 2. *Rhipistomidae* (genre *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Rhipistoma* et *Rhipicephalus*), au rostre court.

En 1890, G. Canestrini introduit un nouveau critère de classification : la présence ou l'absence du scutum à la partie ventrale du mâle. Il divise la famille des Ixodidés en 3 groupes : 1. *Polyopli* (genre *Ixodes*), avec plusieurs scuta ventraux ; 2. *Tetraopli* (genres *Hyalomma* et *Rhipicephalus*), avec quatre scuta ventraux, et 3. *Anopli* (genres *Dermacentor* et *Haemaphysalis*), dépourvus de scutum ventral.

A partir de 1896, G. L. Neumann [7], se fondant sur la classification de Canestrini, divise la famille de Ixodidés — considérée comme une section — en trois tribus : 1. *Ixodaria* (genre *Ixodes*) ; 2. *Rhipicephaleae* (genres *Rhipicephalus*, *Margaropus*, *Boophilus* et *Hyalomma*) et 3. *Amblyommataria* (genres *Amblyomma*, *Aponomma*, *Dermacentor* et *Haemaphysalis*). Neumann n'apporte pas de nouveaux critères de classification, mais ajoute plusieurs genres au schéma de Canestrini.

En 1905, F. Lahille s'oriente sur G. Canestrini et G. L. Neumann, pour la classification qu'il emploie dans son ouvrage.

En 1907, C. Warburton introduit un élément nouveau de classification. Après avoir réuni les familles *Argasidae* et *Ixodidae* en une superfamille, *Ixodaria*, il répartit les Ixodidés entre deux grands groupes, en raison de la position du sillon anal. C'est ainsi qu'il distingue le groupe

Prostriata (genre *Ixodes*) — dont le sillon anal est situé en avant de l'orifice anal — du groupe *Metastriata*, au sillon anal situé en arrière de l'anus. C'est dans ce dernier groupe qu'il classe le reste des genres. Se guidant sur la classification de Canestrini et de Neumann, il divise les *Metastriata* en deux sections : les *Brevirostrata*, au rostre court, et les *Longirostrata*, au rostre long. Warburton sépare les *Brevirostrata* en deux sous-groupes, dont le premier comprend le genre *Haemaphysalis* et le second, les genres *Dermacentor*, *Rhipicentor*, *Margaropus* et *Boophilus*. Les genres *Hyalomma*, *Amblyomma* et *Aponomma* sont rangés dans la section des *Longirostrata*.

La classification de C. Warburton a été adoptée par la suite par N. Banks (1907, 1909) et par d'autres auteurs.

Plus tard, en 1924, E. Jakob introduit pour la première fois, dans la classification, le critère de la chêtotaxie, appliqué aux poils inféro-internes, qui se trouvent sur le bord inféro-interne des palpes. Pour le reste, les groupes établis par Jakob sont également fondés sur la classification de Neumann.

En 1934, M. Sharif analyse les caractères des genres d'Ixodidés et estime que la plupart sont étroitement apparentés entre eux, hormis les genres *Ixodes* et *Haemaphysalis* qui se rangent à part.

En 1937, G. Senevet [11] propose une classification différente, basée sur les caractères utilisés dans les classifications de Neumann, Warburton, Banks et autres. Tout en acceptant la division des *Ixodidés* en *Prostriata* et *Metastriata*, il partage le dernier groupe en 3 sous-familles : 1. *Rhipicephalini* (genres *Hyalomma*, *Boophilus*, *Margaropus* et *Rhipicephalus*), 2. *Amblyomminae* (genres *Amblyomma* et *Aponomma*) et 3. *Dermacentorinae* (genres *Haemaphysalis*, *Rhipicentor* et *Dermacentor*).

L'année suivante, P. Schulze, se servant de nouveaux critères de classification (telles les données touchant le développement phylogénique des *Ixodidae* du groupe fossile des *Antracomarti*, les sensillae du tégument) et suivant la classification de Canestrini et de Warburton, établit une nouvelle classification. Considérant que les Ixodidés constituent une *supercohors*, il les divise en 2 *cohors* : 1. les *Argasides*, avec la famille *Argasidae*, et 2. les *Ixodes*, avec la famille *Ixodidae*. La famille *Ixodidae* comprend la section des *Ixodinae* et la section des *Amblyommatinae*. Cette dernière se divise en : 1. famille des *Hyalomidae* (genres *Rhipicephalus*, *Margaropus*, *Boophilus* et *Hyalomma*) et 2. famille des *Amblyommatidae* (genres *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma* et *Aponomma*).

En 1947, B. I. Pomérantzev reprend le problème de la classification des Ixodidés. Il fait d'abord une critique des critères employés par les autres auteurs, démontrant que le développement du sillon anal, des scuta anaux, des sillons marginaux, des coxes IV (*Dermacentor*, *Haemaphysalis*), de la base du capitule, des cornes dorsales, des palpes et des coxes est en rapport avec l'adaptation au mode de nourriture ou de fixation sur l'hôte et que les festons caudaux se développent en raison de l'évolution ontogénique.

Ces adaptations mènent à la convergence des caractères chez des groupes et genres d'origines différentes. C'est pourquoi, dans la classification en grands groupes, les caractères susmentionnés ne peuvent avoir qu'un emploi limité.

En tant que nouveau critère de classification, B. I. Pomérantzev [8] [9] [10] prend en considération la ligne générale de développement des Ixodidés, en rapport avec l'écologie. C'est ainsi que, au cours de leur développement, les Ixodidés, passant de la nourriture recueillie sur des hôtes vivant dans des tanières ou dans les bois, à celle trouvée sur de grands mammifères errants, vivant dans la steppe, manifestent une augmentation de la capacité de succion du sang de l'hôte et un accroissement du nombre d'œufs déposés. C'est en rapport avec tout ceci que se développe le processus de digestion et l'appareil digestif. B. I. Pomérantzev estime que la forme des valves anales et leur chêtotaxie témoignent de cette ligne générale de développement des Ixodidés et constituent, de ce fait, un bon critère de classification du groupe. En revanche, le même auteur constate que, chez les Ixodidés adultes, les poils du scutum et de l'alloscutum offrent une grande variabilité spécifique et individuelle, alors que les poils de la partie interne des pattes ont une structure identique, ni les uns, ni les autres ne pouvant servir à la classification. Seuls les poils de l'hypostome et, dans certaines conditions, les poils inféro-internes offrent une valeur systématique.

Prenant pour point de départ la structure des poils des valves anales, B. I. Pomérantzev divise la famille des Ixodidés en deux grands groupes : 1. *Paleochaeta*, aux valves anales recouvertes d'une seule rangée continue de poils (genres *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Margaropus* et *Boophilus*), et 2. *Neochaeta*, aux poils anaux disposés en deux groupes séparés (le reste des genres). La forme des valves anales diffère également chez les deux groupes : plate chez les *Paleochaeta*, bombée chez les *Neochaeta*.

Chez les *Paleochaeta*, on constate la présence de 1 à 5 paires de poils, chez le genre *Ixodes* et ses sous-genres, 5 paires, chez le genre *Haemaphysalis*, 2 à 4 paires, chez les genres *Boophilus* et *Margaropus*. Chez les *Neochaeta*, la variabilité du nombre de poils est plus réduite, les genres *Hyalomma* et *Rhipicephalus* ayant 4 paires et *Dermacentor* et *Amblyomma*, 5 paires de poils chacun.

En 1955, G. V. Serdioukova [12] complète les observations de B. I. Pomérantzev, démontrant que les larves de tous ces genres possèdent une seule paire de poils anaux et les nymphes, 1 à 3 paires.

B. I. Pomérantzev fait rentrer les familles *Argasidae* et *Ixodidae* dans la superfamille *Ixodoidae*. Il divise la famille *Ixodidae* en raison des sillons anaux et, en particulier, de la chêtotaxie des valves anales. Ainsi la famille *Ixodidae* inclut : 1. la sous-famille *Ixodinae* (avec le genre *Ixodes* et les sous-genres respectifs), et 2. la sous-famille *Amblyomminae*. Cette dernière est divisée en deux tribus : 1° tribu *Haemaphysalini* (subdivisée en : *a*, sous-tribu *Haemaphysalini*, avec le genre *Haemaphysalis*, et *b*, sous-tribu *Margaropini*, avec les genres *Margaropus* et *Boophilus*) et 2° tribu *Amblyommini* (subdivisée en : *a*, sous-tribu *Ambly-*

ommini, avec les genres *Amblyomma*, *Aponomma*, *Cosmiomma*, *Dermacentor* et *Amblyocentor*, et *b*, sous-tribu *Rhipicephalini*, avec les genres *Rhipicephalus*, *Nosomma* et *Hyalomma*).

Le fait d'avoir pris en considération le sillon anal et le chêtome des valves anales a permis à B. I. Pomérantzev d'établir une classification basée sur le développement phylogénique des Ixodidés.

Tout comme pour l'étude des adultes, les auteurs ont utilisé, dans l'étude des nymphes et des larves, différents organes, qu'ils ont pris pour point de départ lors de la classification des genres et des espèces et, parfois, lors de la classification des formes systématiques supérieures au genre. C'est ainsi que le sillon anal, la fovéole dorsale, l'organe de Haller, les yeux et les poils de l'hypostome ont servi à caractériser la famille et les sous-familles. Les poils anaux, les festons, les coxes, les éléments du gnathosome (forme des palpes, nombre d'articles des palpes, auricules, proéminences latérales du gnathosome) ont servi à caractériser les genres et les espèces.

Parmi les auteurs qui ont caractérisé les formes préadultes d'Ixodidés, on peut citer : C. Nuttal et C. Warburton (1911) [13], N. Olénev (1931), M. D. Pospélova-Strom (1940), Ogandjinian (1953), N. I. Djapardzé (1950) [2], G. V. Serdioukova (1955) [12] et N. A. Filipova (1954) [3].

Certains auteurs, tels B. Glasstchinskaïa Babenko (1949) [1] et D. Allen (1960), ont accordé de l'importance à la chêtotaxie des larves, pour établir les caractères de genre et d'espèce.

G. V. Serdioukova souligne l'importance systématique des poils de l'hypostome, chez les larves et les nymphes (deux paires chez le genre *Ixodes* et une seule chez les autres genres), et de la chêtotaxie du scutum des larves (cinq paires chez le genre *Ixodes* et trois chez les autres genres).

Chez les Ixodidés en général, on n'a souligné l'importance du chêtome que pour les poils de l'hypostome, les poils anaux, les poils inféro-internes — chez les adultes —, et les poils du scutum — chez les larves.

Pour d'autres groupes d'Acariens, le chêtome a été bien étudié et a servi dans les études systématiques. C'est ainsi que fut mis en évidence, pour le groupe des *Gamasoidea*, l'importance du chêtome du corps aux stades de larve, nymphe et adulte (Werner Hirschmann (1957) [4]) ; quant au groupe des Oribatidés, M. F. Grandjean (1935) [5] et W. Knülle (1957) [6] ont étudié la chêtotaxie et son développement depuis le stade larvaire et jusqu'au stade adulte.

Bien que le chêtome des larves d'Ixodidés soit connu, pour ce qui est du scutum et de l'hypostome, le reste du chêtome du corps n'est que partiellement connu et utilisé seulement dans la systématique des espèces et des genres. En ce qui concerne le chêtome du palpe et notamment celui des pattes, les données bibliographiques ayant trait à sa description, aussi bien qu'à son application en systématique, font défaut.

A. MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Prenant pour point de départ l'idée de l'importance phylogénique du chêtome chez les Acariens, nous avons étudié, dans un autre travail, le chêtome de vingt espèces d'Ixodidés, au point de vue morphologie (variation méristique, topographie, dimensions et forme) et phylogénie.

Ces vingt espèces appartiennent à six genres européens et paléarctiques, à savoir : 1. *Ixodes* (*I. trianguliceps*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. chiropterarum*, *I. crenulatus* et *I. vespertilionis*) ; 2. *Haemaphysalis* (*H. punctata*, *H. sulcata*, *H. concina*) ; 3. *Boophilus* (*B. calcaratus*) ; 4. *Dermacentor* (*D. marginatus* et *D. pictus*) ; 5. *Rhipicephalus* (*R. bursa*, *R. sanguineus* et *R. rossicus*) et 6. *Hyalomma* (*H. plumbeum*, *H. scupense*, *H. aegyptium*, *H. asiaticum* et *H. anatolicum*).

B. VALEUR SYSTÉMATIQUE DU CHÊTOME

L'étude du chêtome a démontré que les poils du corps aussi bien que ceux des appendices peuvent servir à établir la ligne de développement phylogénique des genres, des espèces et des formes systématiques supérieures au genre.

Nous examinerons successivement les caractères systématiques du chêtome du corps et du chêtome des appendices.

Les caractères méristiques les plus importants du chêtome du corps sont notés sur le tableau 1.

Tableau 1

Chêtome du corps

Genre	Poils dorsaux	Poils du scutum	Poils du corps	Poils ventraux	Poils ventro-marginaux	Catégories	
Ixodes	22–34	10(6)	44–64	22–32	12–22	Prostriata	Isochaeta
Haemaphysalis	26	6	52	26	8	Metastriata	
Boophilus	26	6	54	28	10		Heterochaeta
Dermacentor	26	6	54	28	10		
Rhipicephalus	26	6	54(56)	28(30)	10		
Hyalomma	26	6	54	28	10		

Tableau 2

Chêtome du palpe

Genre	Nombre de poils	
Ixodes	24—31	Prostriata
Haemaphysalis	23—24	
Boophilus	22	
Dermacentor	24	Metastriata
Rhipicephalus	22—24	
Hyalomma	22—24	

Le total des poils du chêtome des palpes est noté sur le tableau 2. Les caractères méristiques les plus importants du chêtome des pattes sont rendus par le tableau 3.

L'analyse des données mentionnées dans ces trois tableaux nous a permis de tirer certaines conclusions sur la valeur systématique du chêtome chez les larves.

1. La famille des Ixodidés se distingue par deux sortes de caractères : *a*, nombre de poils sur le corps et les appendices, qui varie entre certaines limites caractéristiques ; *b*, certains caractères méristiques du chêtome des pattes, représentés par un nombre invariable de poils, absolument propres aux Ixodidés.

2. Chaque genre présente une série de caractères propres, pour le chêtome du corps et des appendices.

3. Les genres d'Ixodidés peuvent être groupés, en raison des caractères du chêtome du corps et des appendices, en quelques unités morpho-phylogéniques qui peuvent être utilisées en systématique.

a) Ainsi, le groupe *Prostriata* accuse — en ce qui concerne le chêtome du corps et des palpes — une grande variabilité des poils, d'une espèce à l'autre du genre *Ixodes*. La même ample variabilité est propre à certaines catégories de poils des pattes aussi. Chez les *Metastriata*, le nombre des poils des différentes régions du corps et des pattes est fixe, pour chacune des espèces appartenant aux genres : *Haemaphysalis*, *Boophilus*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* et *Hyalomma*. Ce n'est que rarement qu'on observe, chez quelques espèces, une dérogation au nombre caractéristiques du groupe *Metastriata*.

Une autre caractéristique du groupe *Prostriata* consiste en ce que le chêtome comprend toujours un nombre de poils supérieur à celui du groupe *Metastriata*, soit que l'on considère le corps ou ses parties, soit, les appendices ou leurs articles.

Tableau 3

Chêtome des pattes

Nombre de poils	Ixodes	Haema-physalis	Boo-philus	Derma-centor	Rhipi-cephalus	Hya-lomma	Catégories
Tarses I, II + III	22(28) 18(22)	22 18	22 18	22 18	22 18	22 18	Ixodidae
Génual I, II, III	8	8	8	8	8	8	
Fémur I, II	10	10	10	10	10	10	
Trochanter I, III II	4 5	4 5	4 5	4 5	4 5	4 5	
Coxe I	3	3	3	3	3	3	
Patte I	55(61)	54	54	54	54	54	Prostriata et Metastriata
Fémur III	9—10	9	9	9	9	9	
Coxe II, III	2—3	2	2	2	2	2	
Tibia I	8	7	7	7	7	7	
Tibia et génual	égal	inégal	inégal	inégal	inégal	inégal	
Total des poils des pattes	155—171	152	150	150	150	150	Isochaeta et Heterochaeta
Patte II	51—55	50	49	49	49	49	
Patte III	49—55	48	47	47	47	47	
Tibia II, III	8	7	6	6	6	6	
Tibia I, II, III	égal	égal	inégal	inégal	inégal	inégal	
Catégories	Prostriata	Metastriata					
	Isochaeta	Heterochaeta					

Chez les *Metastriata*, un poil de l'anneau proximal du fémur se déplace dans le sens distal.

b) Bien qu'il accuse nombre de caractères du chêtome propres au groupe *Metastriata*, le genre *Haemaphysalis* en diffère toutefois par une série de caractéristiques telles que : 1° le nombre intermédiaire de poils, inférieur à celui des *Prostriata*, mais supérieur à celui des autres genres de *Metastriata* (total des poils des pattes, les poils des pattes II et III

et ceux des tibias II et III), et 2° le nombre de poils, plus réduit que chez les *Prostriata* et le reste des genres de *Metastriata* (total des poils du corps, poils ventraux, poils ventro-marginaux).

c) En vertu des caractères du chêtome des pattes, les genres *Ixodes* et *Haemaphysalis* forment une unité systématique indépendante, opposée aux autres genres de *Metastriata*. Ce qui est caractéristique pour ces deux genres, c'est le nombre de poils, égal sur les trois tibias. C'est pourquoi nous avons appelé ce groupe de deux genres, *Isochaeta*. Les autres genres ont sur le tibia I un nombre de poils qui diffère de celui des tibias II et III, d'où leur nom de *Heterochaeta*. En outre, tous les genres de *Heterochaeta* sont caractérisés par un nombre total de 150 poils sur les trois pattes, 10 poils ventro-marginaux et par la forme recourbée du poil ventral de l'anneau proximal du fémur.

Le caractère de *Isochaeta* joint à celui de *Paleochaeta* isole encore davantage le genre *Haemaphysalis* du reste des genres de *Metastriata*.

C. LA SYSTÉMATIQUE DES IXODIDÉS ET LES CARACTÈRES DU CHÊTOME

L'étude du chêtome des larves permet de mieux caractériser la famille des Ixodidés et les unités systématiques subordonnées.

1. *Caractères de famille.* Les caractères du chêtome de la famille des Ixodidés sont de deux sortes : *a*, certains poils des articles des pattes offrent un nombre invariable (tarse I, II, III, génual I, II, III, fémur I, II, trochanter I, II, III, coxe I), *b*, d'autres, dont le nombre varie entre certaines limites (total des poils du corps et quelques poils de certaines régions du corps), ainsi que les poils du palpe.

2. *Caractères de genre.* Au point de vue du chêtome, seuls les genres *Ixodes* et *Haemaphysalis* présentent, dans la région du corps et sur les appendices, des caractères qui leur sont propres. Le genre *Boophilus* diffère des genres *Dermacentor*, *Rhipicephalus* et *Hyalomma*, par les caractères de *Paleochaeta*, par la position des poils du scutum et par le très petit nombre de poils sur le palpe-tarse. Les autres genres de *Metastriata* (*Dermacentor*, *Rhipicephalus* et *Hyalomma*) sont moins différents entre eux. Cependant, les genres *Rhipicephalus* et *Hyalomma* présentent, à l'opposé du genre *Dermacentor*, les poils rétro-sensoriels du tarse I fixés dans une fossette. En outre, chez le genre *Hyalomma*, on observe un déplacement d'un des poils de l'anneau distal du tibia, du génual et du fémur, ce qui n'a pas été remarqué chez les deux autres genres.

Groupes systématiques situés entre le genre et la famille. De nombreux caractères du chêtome rendent le genre *Ixodes* différent du reste des genres. Les caractères chêtotaxiques correspondent au caractère que lui imprime le sillon anal. Le genre *Haemaphysalis* présente des caractères chêtotaxiques propres ainsi que des caractères communs avec le genre *Ixodes* (*Isochaeta*, *Paleochaeta*). Par ailleurs, le genre *Haemaphysalis* se rattache au genre *Boophilus* en raison du caractère des poils des valves anales (*Paleochaeta*). Les autres genres du groupe *Metastriata* diffèrent

du genre *Boophilus* par leur caractère de *Neochaeta*, mais s'en rapprochent par le caractère de *Heterochaeta*.

Comme nous l'avons relevé au commencement de cet article, ces genres ou groupes de genres ont servi à la classification des Ixodidés en sous-familles, tribus et sous-tribus. Parmi les critères de classification utilisés par les divers auteurs, une valeur systématique particulière s'est avérée être celle du sillon anal, que C. Warburton et les auteurs qui l'on suivi ont employé, et la chêtotaxie des valves anales, dont B. I. Pomérantzev s'est servi pour la classification. Les poils de l'hypostome, des stades larvaires et post-larvaires, présentent également une valeur systématique.

Actuellement, la meilleure classification des Ixodidés, en unités supérieures au genre, est celle de Pomérantzev, qui se guide sur les caractères chêtotaxiques des valves anales.

L'étude du chêtome du corps et des appendices des larves d'Ixodidés nous a permis de bien mettre en lumière la ligne du développement des différents genres et, en même temps, de compléter la classification de B. I. Pomérantzev.

Les caractères du chêtome de l'adulte joints à ceux du chêtome des larves des genres paléarctiques permettent d'établir la suite du développement phylogénique de la famille des Ixodidés. Ceci nous a servi à faire une nouvelle division de la famille *Ixodidae*, en sous-familles, tribus et sous-tribus. En même temps, le chêtome des larves vient confirmer la justesse de la division de la famille *Ixodidae* en deux grands groupes systématiques, en raison du critère du sillon anal.

Au cours du développement phylogénique, le chêtome des pattes et du corps s'est différencié après l'apparition du sillon anal, dans l'ordre chronologique. Le fait que le chêtome des larves accuse des caractères plus évidents pour les genres, que celui des adultes, est une preuve de ce qu'il est plus ancien (paléogénétiques). De même, chez les larves comme chez les adultes, le chêtome des pattes garde des caractères plus primitifs que le chêtome du corps. Ceci s'explique par le fait que ce dernier a modifié ses caractères chêtotaxiques en raison de l'adaptation à la succion d'une plus grande quantité de sang et à la formation d'un plus grand nombre d'œufs. De ce fait, la chêtotaxie du corps a perdu son caractère primitif chez les formes postlarvaires. Seules les valves anales ont conservé, comme l'a montré B. I. Pomérantzev, une chêtotaxie non modifiée, gardant dans leur structure des caractères qui indiquent les degrés d'évolution du groupe.

Les autres caractères acquis au cours de l'évolution des *Ixodidae* sont — au point de vue phylogénique — plus jeunes (néogénétiques) et ne peuvent servir que pour la classification du genre et des espèces, et beaucoup moins dans la systématique des formes supérieures au genre.

Compte tenu de la classification de C. Warburton, de celle de B. I. Pomérantzev, ainsi que des critères fournis par le chêtome des larves, nous proposons la classification suivante de la famille *Ixodidae*.

La famille *Ixodidae* Murray 1877 se divise en trois sous-familles : 1. *Ixodinae* Salmon et Stiles, avec les genres *Ixodes* Latreille 1795 et *Ceratixodes* Neumann 1902 ; 2. *Haemaphysalinae* n. sf. Feider et Mironescu, avec le genre *Haemaphysalis* Koch 1841, et 3. *Amblyomminae* Banks 1907, avec le reste des genres.

La sous-famille *Amblyomminae* comprend deux tribus : *a*, *Margaropini* n. tr. Feider et Mironescu, avec le genre *Boophilus* Curtici 1891, et *b*, *Amblyommini* Banks 1907. La tribu des *Amblyommini* est classifiée selon le système proposé par B. I. Pomérantzev, à savoir : 1° *Amblyommini* Pomérantzev 1947, avec le genre *Dermacentor* Koch 1844, 2° *Rhipicephalini* Pomérantzev 1947, avec les genres *Rhipicephalus* Koch 1844 et *Hyalomma* Koch 1844.

En rapport avec la classification que nous proposons pour la sous-famille *Haemaphysalinae*, n. sf., et la tribu *Margaropini*, n. tr., il nous faut mentionner que d'autres auteurs aussi ont été frappés par les caractères particuliers des genres *Haemaphysalis* et *Boophilus*, comparativement au reste des genres. C'est ainsi que M. Sharif (1934) a montré que le genre *Haemaphysalis* est celui qui ressemble le moins au reste des genres d'*Ixodidae*. B. I. Pomérantzev souligne le caractère écologique particulier du genre *Haemaphysalis*, par rapport aux autres *Metastriatae*.

En ce qui concerne le genre *Boophilus*, P. Schulze (1938) a montré que ce dernier est dépourvu de sensillae tégumentaires et d'autres auteurs — dont B. I. Pomérantzev (1948) et C. V. Serdioukova (1955) — ont mis en évidence l'absence de festons chez *Boophilus* et *Margaropus*.

La connaissance de la structure du chêtome des larves des autres genres d'Ixodidés, provenant d'autres régions du globe, peut fournir des données complémentaires en vue de la classification que nous proposons. Nous espérons toutefois que la division de la famille *Ixodidae* en une sous-famille et une tribu nouvelles sera maintenue, étant donné qu'elle est fondée sur des genres de la région paléarctique, qui ont été étudiés au point de vue du chêtome.

CONCLUSIONS

Dans la systématique des *Ixodidae*, à côté du sillon anal, critère de Warburton — qui est soit un vestige de la structure métamérique des ancêtres des *Ixodidae*, soit une néoformation — une grande importance systématique est accordée, en raison des recherches de B. I. Pomérantzev et des données complémentaires apportées par C. V. Serdioukova, au chêtome des valves anales des formes postlarvaires.

L'application du critère des caractères du chêtome des larves dans la systématique des Ixodidés a fait ressortir des caractère systématiques importants, qui ont permis d'établir une nouvelle division des genres d'Ixodidés en sous-familles (*Ixodinae*, *Haemaphysalinae* et *Amblyomminae*) et en tribus (*Margaropini* et *Amblyommini*).

BIBLIOGRAPHIE

1. Гласчинская Бабенко Б., *Гетотаксия тела личинок клещей сем. Ixodidae и ее таксономическое значение.* ДАН СССР, 1949, **15**, *2*.
2. Джапаридзе Н. И., *Новые виды клещей сем. Ixodidae из Грузии.* Сооб. Акад. Наук Груз. ССР, 1950, **2**, *2*, 117—121.
3. Филиппова Н. А., *К диагностике клещей Ixodes (Exopalpiger trianguliceps Bir.) по личинкам и нимфам.* Зоол. Журн., 1954, **34**, *5*.
4. Hirschmann W., *Gangsystematik der Parasitenformen. Teil I. Rumpfhaarung und Rückenflächen.* Ed. Andoman Furth Bay, 1957.
5. Grandjean M. F., *Les poils et les organes sensitifs portés par les pattes et le palpe chez les Oribatides.* Bull. Soc. Zool. de France, 1935, **60**, *1*, 6—39.
6. Knülle W., *Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen zum phylogenetischen System der Acari. Acariformes Zool. I. Oribatei, Malaconthridae.* Mitt. Zool. Museum in Berlin, 1957, **33**, *1*, 99—213.
7. Neumann G. L., *Ixodidae.* Friedländer u. Sohn, Berlin, 1911.
8. Померанцев Б. И., *К построению системы Ixodoidea,* Пар. Сбор., 1947, **9**, 13—38.
9. —, *Основные направления сиверции Ixodoidea (Acarina).* Параз. Сбор., 1948, **10**, 5—19.
10. —, *Иксодовые клещи, Фауна СССР.* Докл. Ак. Наук, Москва, 1950, **4**, *2*.
11. Senevet G., *Ixodidae,* in : *Faune de France.* Paris, Lechevalier et Fils, 1937.
12. Сердюкова Г. В., *К вопросу о дифференциальных признаках личинок и нимф исследованных клещей (Ixodidae).* Зоол. Журн., 1955, **34**, *5*, 1037—1051.
13. Nuttall G., Warburton C., *Ticks. A monograph of the Ixodoides. Part II.* Cambridge Univ. Press, 1911.

COMMISSION INTERNATIONALE POUR L'EXPLORATION SCIENTIFIQUE DE LA MER MÉDITERRANÉE — MONACO. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions*, publiés par les soins de Jean Furnestin, vol. XV, fasc. 2, in -4°, 425 pages, Paris, 1960

Faisant suite au premier fascicule, qui comprend des actes et des textes administratifs, le fascicule en question réunit 52 études portant sur les organismes de la Méditerranée, de l'Adriatique et de la mer Noire (littoral roumain). Parmi ces études, 25 sont consacrées au benthos, 24 au plancton et 5 au necton.

Les rapports des présidents des trois comités, sur les travaux concernant les trois associations d'organismes, benthos, plancton et necton, sont publiés dans ce fascicule.

J. M. Pérès présente trois rapports et un compte rendu sur le benthos, où il analyse et discute les études se rapportant à cette association d'organismes, libres ou fixés, du fond des mers.

Dans son premier *Rapport sur les travaux récents concernant le benthos méditerranéen* (p. 9—36), l'auteur propose de diviser le domaine benthique en deux grands systèmes : 1. Le système littoral, avec 4 étages (supralittoral, mésolittoral, infralittoral, circalittoral), et 2. le système profond, avec 4 étages (épibathyal, mésobathyal, infrabathyal (= abyssal), hadal). Ces étages ne sont pas délimités suivant des critériums bathymétriques ou morphologiques, mais suivant des critériums biologiques.

D'autres projets de division ont encore été présentés, dont celui du Professeur Umberto d'Ancona et celui du Professeur A. Ercegovic. Dans un ouvrage publié en 1957 (*Principes et essai d'un classement des étages benthiques*), ce dernier propose de prendre le degré de luminosité pour principal critérium écologique de délimitation des étages et en distingue 8 : 1. holophotal (lumière pleine) ; 2. talantophotal (lumière oscillante) ; 3. mégaphotal (lumière relativement forte) ; 4. métriophotal (lumière médiocre) ; 5. oligophotal (lumière faible) ; 6. méiophotal (lumière très faible) ; 7. amydrophotal (lumière crépusculaire) ; 8. aphotal (lumière nulle).

Dans la seconde partie de son rapport — relative aux unités systématiques —, on trouve l'analyse de 171 travaux scientifiques, dont 14 sont dus à des chercheurs roumains et consacrés aux organismes végétaux et animaux de la mer Noire. Les auteurs roumains cités sont les suivants : N. Bacalbaşa, M. Băcescu, Th. Buşniţă, I. Arachelian, A. Cărăuşu, S. Cărăuşu, E. Dumitrescu, N. Ionescu, G. Marcoci, L. Popescu, E. Pora, I. Roşca et H. Skolka.

Des mentions élogieuses sont faites d'une étude sur les Amphipodes (*Gamaridae*), publiée en 1943 par S. Cărăuşu, et de celle d'Aurelia Cărăuşu, sur les Mollusques de la mer Noire (1957).

J. M. Pérès remarque que, depuis l'Assemblée Générale qui a eu lieu à Istanbul, l'activité consacrée au benthos est allée s'intensifiant et est aujourd'hui plus grande que jamais.

Dans un *Rapport additionnel sur les travaux récents concernant le benthos méditerranéen* (p. 38—43), M. Pérès relève les travaux de Băcescu, Dumitrescu, Manea, Pór et Mayer sur la biocénose des côtes roumaines de la mer Noire, caractérisée par le Lamellibranche *Corbulomya maeotica* Mil. Il signale également l'étude de N. Ionescu et N. Şerpoianu sur la nourriture du requin de la mer Noire (*Squalus acanthias* L.).

Dans ce fascicule, sont publiés, entre autres, les articles suivants, par des auteurs roumains :

1. M. Băcescu, N. Şerpoianu, V. Chirilă, H. Skolka, V. Manea : *Études physico-chimiques et biologiques en mer Noire. I. Littoral roumain, secteur Est Constantza, entre les parallèles 44°10′ et 43°49′, de 50 à 200 m de profondeur* (p. 55—64, 2 fig.).

L'article comprend les premières données physico-chimiques et biologiques, pour un tiers du secteur roumain de la mer Noire, et les premières analyses de la microfaune benthique de la zone profonde de la plate-forme continentale. 584 stations ont été exécutées en vue d'établir la base trophique et sa dynamique dans cette région de la mer Noire. Il est certain que ces recherches se poursuivront et s'étendront au reste du littoral roumain de la mer Noire.

2. Francisca Elena Caraion : *Deux Ostracodes nouveaux pour les eaux du littoral roumain : Cytheridea tchernjawskii (Dubovski) emend. Caraion et Cytheridea bacescoi n. sp.* (p. 113—120, 5 fig.).

On y trouve la description de ces deux intéressantes espèces d'Ostracodes, suivie d'indications sur leur provenance, sur la profondeur et la nature du fond.

3. R. Codreanu : *Sur quelques pagures littoraux de l'Albanie et la présence du rhizocéphale Septosaccus cuenoti Duboscq 1911 dans l'Adriatique* (p. 127—140, 7 fig.).

On y signale les espèces de pagures *Paguristes oculatus* (Fabric.) 1775, *Clibanarius misanthropus* (Risso) 1826, *Diogenes pugilator* (Roux) 1828, en relevant les anomalies des pléopodes. Des considérations sont faites sur l'asymétrie par adaptation des pagures ainsi que sur le parasitisme du rhizocéphale *Septosaccus cuenoti*, signalé pour la première fois dans l'Adriatique.

Dans son *Rapport sur les travaux relatifs à la planctonologie méditerranéenne, publiés entre juillet 1956 et juin 1958* (p. 191—225), G. Trégouboff cite 63 travaux dont celui de l'auteur roumain L. Elian, sur les Chétognathes des eaux roumaines de la mer Noire.

Dans son second *Rapport du président sur l'activité du Comité du Plancton pendant la XVI^e Assemblée plénière* (p. 227—247), Trégouboff — en raison de ses observations visuelles en tourelle Galeazzi, dans la couche de 100 m, ainsi que des plongées en bathyscaphe, jusqu'à plus de 2 000 m de profondeur — se montre sceptique quant à l'exactitude des calculs quantitatifs de la biomasse planctonique, déterminée par les moyens actuels, filets ou collecteurs des plus perfectionnés. Le plancton n'est pas réparti d'une manière uniforme dans la mer : il est plus dense en certains endroits, et se déplace, en essaims portés par les courants. On ne peut donc savoir si le filet planctonique a plongé dans ces zones de condensation ou bien dans les intervalles. Le rendement planctonique peut donc être tout à fait différent, au point de vue quantitatif, selon l'endroit de la prise.

Il y a donc lieu de se montrer aussi sceptique que Trégouboff, sur la valeur que l'on peut accorder, dans ces conditions, aux calculs et aux évaluations de la biomasse totale, dont il est fait si grand cas dans les travaux consacrés à l'analyse quantitative du plancton.

Parmi les études sur le plancton, publiées dans ce fascicule, on trouve celle de V. Hilarius Skolka : *Espèces phytoplanctoniques des eaux roumaines de la mer Noire* (p. 249—268).

L'auteur y cite 136 espèces phytoplanctoniques, dont 21 ont déjà été signalées ; 115 sont donc nouvelles pour la flore de la R.P. Roumaine, 17 espèces se développent en masse, 27 sont fréquentes, et 87 espèces sont rares ou très rares. On remarque surtout la rareté des Coccolitophoridées, dans les eaux roumaines de la mer Noire, probablement en raison de la salinité réduite de ces eaux, due à l'influence des eaux du Danube.

Dans son *Rapport sur les travaux récents d'ichthyologie méditerranéenne* (p. 377—423), R. Dieuzeide signale également les travaux des auteurs roumains suivants : V. Leonte, Gh. I. Manea et M. Mihai, O. Necrasov, E. Caraman-Adăscăliței, S. Haimovici et M. Cristescu, Z. Feider, I. Mironescu, L. Solomon, V. Simionescu et S. Ilie, I. Rădulescu, etc.

D'une manière générale, le second fascicule du XV^e^ volume de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée paraît dans des conditions techniques supérieures, et comprend des études d'une réelle valeur sur le benthos, le plancton et le necton de la Méditerranée, de l'Adriatique et de la mer Noire, dont certaines sont dues à des auteurs roumains. Nous signalerons toutefois qu'il est regrettable que les titres en langue roumaine soient transcrits avec des fautes d'ortographe assez fâcheuses.

C. Motaș

Micro-organisms in the soil, by Alan Burges, Hutchinson University Library

This work was published in 1958, in the "Biological Sciences" series of the Hutchinson University Library.

Professor Alan Burges of the Liverpool University has written this book with the aim to convey to specialists a general synthetic idea concerning the distribution and activity in the soil of many micro-organisms in the largest sense of the term, such as fungi, bacteria, actinomycetes, algae, protozoa, nematodes, etc.

It is not a large work, but the author has the merit of presenting in a whole the main organisms which form the population of the soil, as well as the lines along which they may be studied.

Although no claim is made to supply a methodical guide for the systematic study of organisms living in the soil, the main methods of investigation have nevertheless been described and the treatises and texts which may be used in the study of this subject have been indicated.

The book is valuable also because it points out a series of oecological data on the ground of which an attempt is made to discuss the factors determining the distribution of organisms and their activity in the soil.

Three of the 9 chapters of the book deal with the problem of the role played by micro-organisms in the transformation cycles of organic matter, the influence of man on the micro-organisms of the soil, as well as with the soil as a balanced dynamic system. The book has 188 pages.

Dr. A. Săvulescu
CORRESPONDING MEMBER OF THE ACADEMY OF THE R.P.R.

I. MORARIU. *Botanica generală şi sistematică* (Общая ботаника и систематика). Editura Agro-Silvică, 1960, 548 стр., 507 рис.

Книга проф. И. Морариу, адресованная натуралистам из всех областей деятельности и, в особенности, практикам (лесоводам, специалистам по сельскому хозяйству), дает очень полное и законченное представление о всем растительном мире. С этой целью она не ограничивается лишь определениями, описаниями и диагнозами, а раскрывает также с достаточной обоснованностью основные положения биологической философии с позиций диалектического материализма, сохраняя во всем своем изложении единую точку зрения, на уровне самых передовых современных знаний. В свете этих идей растительный мир рассматривается как одно непрерывно изменяющееся целое. Способ изложения и объяснение материала делает эти идеи ясными и понятными для каждого.

Помимо этих теоретических сведений уделяется внимание и практическим средствам познания растений.

Книга состоит из двух основных частей, подразделенных следующим образом:

I. *Общая ботаника*, с вводной главой, касающейся живых организмов и следующих дисциплин: цитологии, гистологии, анатомии органов, размножения растений.

II. *Систематика растений*, с общей частью, где широко обсуждается вопрос вида и систем ботанической классификации, и специальной частью, где растения описываются по типам, классам, порядкам, семействам и родам.

В общей ботанике каждая из перечисленных выше дисциплин, представлена по общей схеме, в которой указывается ее место в ботанической науке, определение, объект, метод и основные принципы, стоящие в его основе. Взятые примеры являются в высшей степени показательными, хотя предпочтение дается преимущественно примерам из лесной ботаники.

В систематической части, в качестве образцов брались наиболее известные и в то же время наиболее типичные растения, так что представленный здесь материал легко воспринимается теми, кто хочет ознакомиться с вопросами ботаники.

Книга написана красивым языком, тщательно отредактирована и эстетично оформлена. Некоторые части, отклоняющиеся в известной степени от основной мысли, но вместе с тем представляющие интерес, напечатаны мелким шрифтом, что способствует лучшему отбору представленного материала.

К. Бындиу

Ocrotirea naturii nr. 5 (Охрана природы № 5) Editura Academiei R.P.R., 1960

Начиная с 1955 года комиссия по охране памятников природы приступила к изданию бюллетеня — «Охрана природы» и до настоящего времени вышли 5 номеров этого издания. Последний номер (№ 5), недавно появившийся в продаже, содержит научные работы, сообщения, данные по вопросам охраны природы в других странах, различные заметки из РНР и из-за границы, рецензии, библиографию, сведения о работе Комиссии по охране памятников природы и указатель работ, опубликованных в 5 вышедших номерах.

Ниже дается краткое содержание этого номера журнала.

В статье «Эмиль Раковицэ и охрана природы» Валериу Пушкариу подробно излагает заслуги этого румынского ученого в деле охраны ряда памятников природы. Наряду с этим даются критерии, опубликованные Раковицэ в 1934 году, на основании которых решается признание памятника природы, а также и 3 вида предложенных им заповедников: естественные заповедники, научные заповедники и туристические заповедники, причем каждый из них сопровождается подробной характеристикой.

«Поляна нарциссов в Думбраве - Вадулуй» описывается И. Шербэнеску после продолжительного ее изучения. Красочный стиль изложения этой статьи рисует перед читателем редкой красоты картину лугов нарциссов, раскинувшихся у подножия горного массива Фэгэраш. Автор описывает условия жизни растений и существующие растительные ассоциации, на основании которых показывает дальнейшую эволюцию растительности в этом месте. Из изучавшихся растительных ассоциаций наиболее интересной является ассоциация белоусника с синявкой и нарциссом, впервые описанная в РНР и охватывающая фитоценозы с нарциссами.

Думбрава-Вадулуй должна охраняться из-за ее красоты, из-за того, что является единственным дубовым лесом на Фэгэрашской впадине, а также и потому, что здесь сосредоточены многочисленные виды и растительные ассоциации, свойственные этой впадине.

В статье «Тетерев (Lyrurus tetrix tetrix L.) — памятник природы» И. Филипович дает ряд данных по биологии и географическому распространению этой птицы, а также и все существующие в стране сведения о ней. В конце статьи обсуждается вопрос размножения и новой колонизации тетерева (Lyrurus tetrix tetrix L.) в наших краях.

Вопрос охраны некоторых видов лекарственных растений рассматривается Ионом Поп в работе «К охране некоторых дикорастущих лекарственных растений в Румынской Народной Республике». Автор обращает внимание на то, что некоторые редкие лекарственные растения (Gentiana lutea L., Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spr., Ilex aquifolium L., Aconitum romanicum Wol.) не следует собирать из дикорастущей растительности, так как при этих условиях они приговорены к исчезновению; необходимо, чтобы аптекарские потребности в них покрывались путем культивации этих растений в широком масштабе.

В статье «Об ондатре (Ondatra zibethica L.) в Румынской Народной Республике» Г. Маркеш указывает на то, что в последнее время этот грызун настолько сильно размножился в стране, что стал представлять собой опасность, вследствие причиняемого им ущерба, в особенности в Дельте Дуная. Сообщается подробно множество интересных данных об ондатре (колонизация ее в Европе, биология, экология, ее болезни и враги, хозяйственное значение, методы борьбы с ней и проч.), являющиеся особенно важными не только в теоретическом отношении, но и, в особенности, в практическом, так как в некоторых областях страны борьба с ней стала необходимой. Описание сопровождается фотографиями и разъясняющими их схемами.

Из научных сообщений, опубликованных в № 5 журнала «Охрана природы», следует отметить следующие: « Saxifraga cymbalaria L. var eucymbalaria Engl. et Irmsch. в РНР» М. Шербэнеску; «Охрана парков на юго-западе страны» С. Раду; «Пещера в Клошане» Н. Митулеску; «Соснагорная и её роль в национальной экономии» В. Сорана; «Охрана рыси (Lynx lynx L.)» И. Поп. Все эти сообщения являются ценным вкладом с научной точки зрения, имеющим целью обосновать охрану различных растений, животных, пещер и проч.

Г. Дихору

PRINTED IN RUMANIA

TRAVAUX PARUS AUX ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

BIOLOGIE

* * * **Darvinismul şi problema evoluţiei în biologie** (Le darwinisme et le problème de l'évolution en biologie), 231 pp., broché, lei 9,50.

BIOLOGIE VÉGÉTALE

GH. ANGHEL et collaborateurs, **Determinarea calităţii seminţelor** (Détermination de la qualité des semences), 415 pp., lei 25,80.

AMILCAR VASILIU, **Asolamentele raţionale** (Les assolements rationnels), 194 pp., lei 8,10.

* * * **Flora Republicii Populare Romîne**, vol. VII (La flore de la République Populaire Roumaine), 663 pp., lei 37,50.

EMIL POP, **Mlaştinile de turbă din Republica Populară Romînă** (Les tourbières de la République Populaire Roumaine), 516 pp., lei 28,60.

* * * **Zonarea ecologică a plantelor agricole în R.P.R.** (La répartition par zones écologiques des plantes agricoles dans la République Populaire Roumaine), 287 pp., lei 18,50.

BIOLOGIE ANIMALE

LUDOVIC RUDESCU, **Fauna Republicii Populare Romîne**, vol. II, fasc. 2, **Rotatoria** (La faune de la République Populaire Roumanie. **Rotatoria**), 1194 pp., lei 73.

* * * **Probleme actuale de biologie şi ştiinţe agricole. Lucrare dedicată Acad. Prof. G. Ionescu-Şişeşti cu prilejul împlinirii a 75 de ani** (Problèmes actuels de Biologie et Sciences agricoles. Volume dédié au Professeur G. Ionescu-Şişeşti, membre de l'Académie de la R.P.R., à l'occasion de son 75e anniversaire), 782 pp. + 9 pl., lei 53.

MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

I. ADAMEŞTEANU, A. NICOLAU et H. BÂRZĂ, **Semiologie medicală veterinară** (Sémiologie médicale vétérinaire), 792 pp., lei 62.

V. TOMESCU, I. GHEORGHIU et I. ISOPESCU, **Febra aftoasă** (La fièvre aphteuse), 452 pp., lei 35,40.

SCIENCES AGRICOLES

* * * **Ampelografia Republicii Populare Romîne** (Ampélographie de la République Populaire Roumaine), IIe vol., 748 pp. + 41 pl., lei 93 ; IIIe vol., 692 pp. + 38 pl., lei 49,50.

REVUE DE BIOLOGIE
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
JOURNAL OF BIOLOGY
ZEITSCHRIFT FÜR BIOLOGIE

Cette publication a paru jusqu'à cette date comme suit :

Tome I, 1956 :

N° 1	édition en langue russe	8,35 lei
	édition en d'autres langues étrangères	11,55 „
N° 2	édition en langue russe	13,00 „
	édition en d'autres langues étrangères	8,50 „

Tome II, 1957 :

N° 1	6,75 „
N° 2	8,75 „

Tome III, 1958 :

N° 1	8,20 „

Tome IV, 1959 :

N° 1	8,70 „
N° 2	9,20 „

Tome V, 1960 :

N° 1—2	8,75 „
N° 3	4,80 „
N° 4	6,60 „

Le VI^e tome (1961) paraîtra en 4 fascicules.

Les commandes faites en Roumanie seront adressées, soit directement, soit par la poste, à la

LIBRĂRIA ACADEMIEI R.P.R.
27, Calea Victoriei, Bucureşti

Pour toute commande faite à l'étranger (fascicules ou abonnements) s'adresser à

CARTIMEX

Boîte postale	Почтовый ящик	P.O.B.	Postfach
134—135	134—135	134—135	134—135
Bucarest	Бухарест	Bucharest	Bukarest
Roumanie	Румыния	Rumania	Rumänien

ou bien à ses représentants à l'étranger.

I. P. 2. c. — 618